Aus dem Institut für Hygiene
der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel
Direktor: Prof. Dr. A. Tolle

ZUR EXPERIMENTELLEN GEWINNUNG STERILER ROHMILCH ÜBER EIN IMPLANTIERTES KATHETERSYSTEM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans-Harald Großberger
Tierarzt aus Königsberg

Berlin 1971
Journal-Nr. 759

Aus dem Institut für Hygiene
der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel
Direktor: Prof. Dr. A. Tolle

ZUR EXPERIMENTELLEN GEWINNUNG STERILER ROHMILCH ÜBER EIN IMPLANTIERTES KATHETERSYSTEM

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin

an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Hans-Harald Großberger
Tierarzt aus Königsberg

Berlin 1971
Journal-Nr. 759

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches 8
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender:	Prof. Dr. J. Boch
Referent:	Prof. Dr. H.J. Heidrich
Korreferent:	Prof. Dr. M. Mülling

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 7. 1971

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG
2.	SCHRIFTTUM
2.1	Synthese der Milch
2.2	Entleerungsmechanismus
2.3	Infektion der Milchdrüse
2.4	Mikrobielle Kontamination der Rohmilch
2.5	Fremdmaterialien in der Chirurgie
2.5.1	Anforderungen an die Implantate
2.5.2	Metalle
2.5.3	Kunststoffe
2.5.3.1	Chemie der Kunststoffe
2.5.3.2	Körperreaktionen auf Kunststoffimplantate
2.5.3.3	"Alterung" der Kunststoffe
2.5.3.4	Die wichtigsten Kunststoffe in der Chirurgie
2.5.3.4.1	Polytetrafluoräthylen
2.5.3.4.2	Polyäthylenglykolterephthalat
2.5.3.4.3	Silikonkautschuk
2.5.3.4.4	Polymethylmetakrylat
2.5.3.4.5	Polypropylen
2.5.3.4.6	Polyäthylen
2.5.3.4.7	Polyvinylchlorid
2.5.3.4.8	Polyamide
2.5.3.4.9	Glas
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN
3.1	Material
3.1.1	Versuchstiere
3.1.2	Katheterkonstruktion
3.1.2.1	Tubus
3.1.2.2	Konnektiv

3.1.2.3 Sinuskatheter
3.1.2.4 Kollektor
3.1.2.5 Zentralkatheter
3.1.2.6 Infektionsbarriere
3.1.2.7 Desinfektionsschleuse

4. METHODIK
4.1 Kaltsterilisation des Kathetersystems und der Plastikfolienbehälter mit gespanntem Äthylenoxyd
4.2 Operationstechnik zur Implantation der Katheter
4.2.1 Operationsvorbereitungen
4.2.1.1 Instrumentarium
4.2.1.2 Kathetersystem
4.2.1.3 Operationsfeld
4.2.2 Medikation
4.2.2.1 Praemedikation
4.2.2.2 Operative Medikation
4.2.3 Operationstechnik
4.2.4 Entfernen der Wundnähte
4.3 Technik des Milchentzuges
4.3.1 Entzug in sterile Metalleimer
4.3.2 Entzug in Plastikfolienbehälter
4.4 Technik der Probenahme
4.5 Laboratoriumsuntersuchungen
4.5.1 Elektronische Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen
4.5.2 Bestimmung der Gesamtkeimzahl
4.5.3 Nachweis von antibiotisch wirksamen Substanzen
4.5.4 Nachweis von Mastitiserregern
4.5.4.1 Streptokokken
4.5.4.2 Staphylokokken
4.5.4.3 Coliforme Keime
4.6 Datenerfassung und -auswertung

5. ERGEBNISSE

5.1 Operationstechnische Vorversuche an sieben Versuchstieren

5.2 Versuche zur Gewinnung steriler Rohmilch an fünf Versuchstieren

6. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

7. ZUSAMMENFASSUNG

8. SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

9. ANHANG

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0048

1. EINLEITUNG

Durch ihren Gehalt an Laktose, Fett, Proteinen, Mineralstoffen und Vitaminen in gelöster, grob dispers oder kolloidal verteilter Form ist die Milch von der Synthese in der Drüse über Gewinnung, Transport, technologische Be- und Verarbeitung bis hin zum Konsumenten zahlreichen physikalisch-chemischen Einflüssen ausgesetzt und darüber hinaus für die meisten Mikroorganismen ein vorzügliches Nährsubstrat.

Die Kenntnisse über die Eigenschaften der unveränderten Milch, wie sie im Alveolar-, Ductus lactiferi- und Sinussystem der gesunden Drüse vorhanden ist, sind gering, da das Substrat spätestens bei der Gewinnung unvermeidbar mikrobiell kontaminiert wird und seine strukturellen Eigenschaften durch die konventionellen Entzugsmethoden deutlich beeinflußt werden können.

Eine unveränderte Milch ist als "Urmeter" bzw. Bezugssystem für alle unerwünschten oder erwünschten Alterationen anzusehen und ihre sterile sowie physikalisch schonende Gewinnung in vielfacher Hinsicht von wissenschaftlichem Interesse:

Sie ermöglicht eine Reihe neuartiger und grundlegender Experimente im Rahmen der Physiologie der Milchbildung und Milchhergabe, der Mastitisätiologie, der biochemischen, physikalischen sowie technologischen Eigenschaften der Milch und der Wirkung saprophytärer Keime nach experimenteller Kontamination des sterilen Substrates.

Im Jahre 1969 haben TOLLE und ZEIDLER ein Verfahren beschrieben, bei dem die Milch unter Umgehung der natürlichen Drüsenöffnung über chirurgisch eingebrachte Dauerkatheter entzogen wird. Zur sicheren Ausschaltung einer Infektion wird der Strichkanal (Ductus papillaris) verschlossen und die Milch über ein Kathetersystem abgeleitet, das aus vier jeweils in den Sinus lactiferus

eingelegten Tubi besteht, die über Sinuskatheter und einen in den Sulcus intermammaricus implantierten Kollektor mit einem Zentralkatheter in Verbindung stehen, der seinerseits subcutan bis zu einem Bereich unterhalb der Plica subilica führt und hier die äußere Haut durchtritt. Das oberhalb der äußeren Haut sich befindende Ende dieses Zentralkatheters enthält eine Desinfektionsschleuse, so daß die Milchdrüse mikrobiell hermetisch von der Außenwelt abgeschlossen ist, sofern der perikathetrale Raum von Infektionen freigehalten werden kann.

Im Rahmen dieser Forschungsarbeiten zur Entwicklung eines aseptischen Milchentzuges erhielt ich von Herrn Prof. Dr. A. TOLLE die Aufgabe, verschiedene Kunststoffmaterialien und -formen auf ihre Eignung zur Dauerimplantation zu prüfen und für physikalische, chemische, enzymbiologische, mikrobiologische und technologische Fragestellungen, die in der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel bearbeitet werden, größere Mengen steriler Rohmilch zur Verfügung zu stellen.

SCHRIFTTUM

Nachfolgend wird die Literatur über die Mechanismen der Milchsynthese und Entleerung der Milchdrüse, die Infektionswege bei Mastitiden und die postsekretorische mikrobielle Kontamination der Milch nur soweit besprochen, wie sie für die vorliegende spezielle Fragestellung von Interesse ist. Dagegen wird der Versuch unternommen, die Angaben über die Dauerimplantation von Fremdmaterialien vollständig zu erfassen, da hierüber in der veterinärmedizinischen Literatur noch keine Übersicht vorliegt.

1 Synthese der Milch

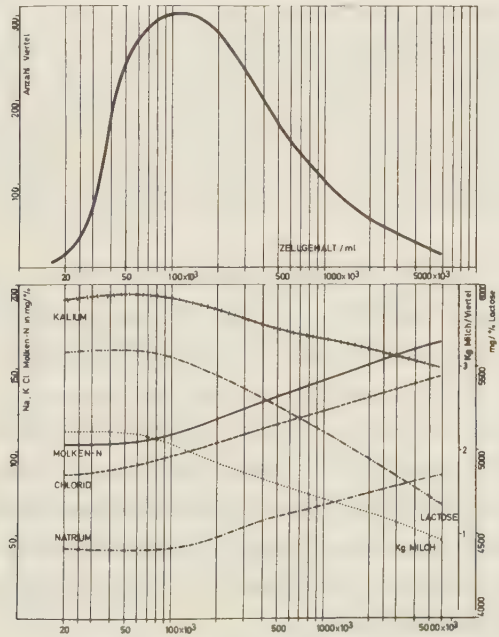
Bei einer adäquaten Nährstoffversorgung wird die Synthese der Milch von der Anzahl sezernierender Zellen - d. h. dem sezernierenden Areal der Milchdrüse - und der sekretorischen Kapazität der einzelnen Alveolarepithelien bestimmt. Beide sind primär genetisch determiniert, unterliegen aber über die Fütterung und die Technik des Milchentzuges mit den damit verbundenen Entleerungsintervallen und neurohormonalen Steuerungsprozessen in hohem Maße dem Einfluß von Umweltfaktoren. Die zur Milchsynthese erforderlichen chemischen Bausteine wie Aminosäuren, Glukose, Fettsäuren, Mineralstoffe und Vitamine werden über ein weit verzweigtes Gefäßsystem an die Drüsenepithelien herangeführt. Zwischen Kapillaren und Alveolarepithelien findet ein intensiver Stoffaustausch statt. Für die Bildung von einem Liter Milch müssen ca. 400 - 500 Liter Blut das Organ durchströmen (ZIEGLER und MOSIMANN, 1960). Die Synthese von Laktose, Kasein, Milchfett, Laktalbumin und Laktoglobulin stellt eine spezifische Leistung der Alveolarepithelien dar. Dagegen werden Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe unverändert dem Blutstrom entnommen. Hierbei handelt es sich nicht um einen einfachen Filtrationsvorgang, sondern um ein aktives Selektionsvermögen des Milchdrüsenepithels. ROOK und WOOD (1959) geben an, daß in den Alveolarepithelien der Milchdrüse eine kontinuierliche Synthese von Laktose, Fett und Protein stattfindet und in die Zelle eindringendes Wasser der Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes dient. Wenn ein bestimmter Synthesegrad erreicht ist, werden die Inhaltsstoffe der Milch, die der "true milk" von BARRY und ROWLAND (1953) entsprechen, in das Alveolarlumen der Drüse abgegeben. Während diese "true milk" stets eine konstante Zusammensetzung aufweist, wird sie in

der Alveole mit einer Lösung verdünnt, die Kalium, Natrium und Chlorid etwa in solchen Konzentrationen enthält, wie sie im Blut vorkommen. Diese "Verdünnungslösung" tritt direkt - also unter Umgehung der Epithelzellen - aus dem Blut in die Alveolen über. Wenn die sekretorische Leistungsfähigkeit der Drüsenepithelien reduziert ist - etwa am Ende der Laktation oder als Folge von Infektionen - wird die Milchzusammensetzung durch die Verschiebung des Verhältnisses zwischen der "true milk" und der sich in den Alveolen befindenden gelösten Blutbestandteile beeinträchtigt. Gleichzeitig geht die Milchmengenleistung zurück. Diese Theorie erklärt somit auch die Art und Richtung, in der die Milchzusammensetzung durch eine gestörte Sekretion beeinflußt wird. Als Ursache hierfür sind international pathogene Mikroorganismen wie koagulasepositive Staphylokokken und Streptokokken der serologischen Gruppen B, C und E, aber auch andere Bakterienspecies gesichert, und beim Milchentzug wirksam werdende physikalische Faktoren werden als Krankheitserreger übertragend oder traumatisch schädigend verantwortlich gemacht.
Das Eindringen pathogener Mikroorganismen in das Parenchym der Milchdrüse löst eine Emigration von Phagozyten aus den Kapillaren bzw. dem perivaskulären Interstitium aus, die auf jede Reizursache hin - Wachstumsvorgängen vergleichbar - exponentiell erfolgt.

Da entsprechend der o. a. Theorie bestimmte Milchinhaltsstoffe und die Anzahl somatischer Zellen als stufenlos quantifizierbare Kriterien eng korreliert sind, wurde von REICHMUTH (1970) und TOLLE et al. (1970) der Versuch unternommen, mit Hilfe biochemischer Parameter diskriminanzanalytisch einen zytologischen Grenzwert für die normale Sekretion zu bestimmen. Hierfür standen von insgesamt 659 Kühen der Rasse "Deutsche Schwarzbunte" 2 636 Viertelgemelke zur Verfügung. Als Untersuchungsmethoden dienten die elektronische Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen, die bakteriologische Untersuchung mit Hilfe selektiver Anreicherungsmedien und die chemische Bestimmung der Milchinhaltsstoffe in der kontinuierlichen Durchflußanalyse im Auto-Analyzer -System.

In der folgenden Abbildung 1 sind alle in stärkerem Maße von dem Gesundheitszustand der Milchdrüse abhängigen qualitativ-quantitativen Merkmale der Milchsekretion zu einem geschlossenen Bild zusammengestellt. Hierbei ist allen Kurven eine mehr oder weniger deutliche Steigungsänderung im Bereich ab 100 000 bis 200 000 Zellen gemeinsam. Faßt man den aufsteigenden Schenkel der Häufigkeitsverteilung der Zellzahlbefunde als Näherung an eine GAUSS'sche Glockenkurve auf, die etwa bei 150 000 Zellen pro ml ihren Modalwert hat, so liegt die zweifache Standardabweichung bei ca. 500 000 Zellen/ml Anfangsgemelk.

Dieser Grenzwert stimmt mit dem ohne eine solche Begründung von der INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF) (1966) für eine "normale Sekretion" festgelegten zytologischen Maximum überein. Er wurde auch den in dieser Arbeit beschriebenen eigenen Untersuchungen zugrunde gelegt.



BEZIEHUNGEN ZWISCHEN DEM ZELLGEHALT, VERSCHIEDENEN MILCHINHALTSSTOFFEN UND DER PRODUZIERTEN MILCHMENGE (n=2636 VIERTELGEMELKE).

Abb. 1 (nach TOLLE et al. 1970)

2.2 Entleerungsmechanismus

Dieser für die Aufrechterhaltung der Laktation wichtige Vorgang wird zunächst durch eine neuro-hormonal gesteuerte Freigabe der in den Alveolen und den in der Tiefe des Organs gelegenen Ductus lactiferi gespeicherten Milch eingeleitet, die durch eine Stimulation der Milchdrüse ausgelöst werden kann. Die als "Anrüsten" bezeichnete Stimulation wird in der Praxis im wesentlichen durch eine manuelle Massage der Milchdrüse erreicht. Gleichzeitig spielen hierbei auch bedingte Reflexe eine Rolle. Bei der Massage werden die taktilen und thermischen Reize über Nervenbahnen in den Hypothalamus geleitet, der dann den Hypophysenhinterlappen zur Ausschüttung des Hormons Oxytocin veranlaßt. Dieses Hormon wird im Hypothalamus synthetisiert und im Hypophysenhinterlappen bis zu seiner Ausschüttung in die Blutbahn gespeichert. Das in die Blutbahn abgegebene Oxytocin bewirkt das "Einschießen" der Milch (ELY und PETERSEN 1941, COWIE 1961), indem es die außen an den Alveolen und den Milchgängen der Milchdrüse gelegenen Myoepithelzellen (Korbzellen) zur Kontraktion bringt. Dadurch werden die Alveolen komprimiert, die Milchgänge dagegen erweitert, weil die Myoepithelzellen in der Wand längs angeordnet sind (WHITTLESTONE et al. 1953). Hierbei fließt die Milch von den oberen Abschnitten des Parenchyms in die Drüsen- und Zitzenzisterne.

Zwischen Reizaufnahme und "Einschießen" der Milch liegen normalerweise 25 - 120 Sekunden. Das "Einschießen" ist mit einem Ansteigen des in der Zisterne gemessenen Milchdruckes von 20 - 30 mm Hg auf etwa 35 - 60 mm Hg verbunden. Während der ersten 2 - 3 Minuten des Milchentzuges bleibt der Milchdruck nahezu konstant (PHILLIPS, 1968). Mit zunehmender Entleerung (Saugen des Kalbes, manueller, maschineller Entzug) der Milchdrüse sinkt der hohe Druck jedoch bis auf den Nullpunkt und steigt in der Zwischenmelkzeit entsprechend der erneuten Füllung der Milchdrüse wieder an. Wird die Milch jedoch nicht entzogen, so wird nach 7 - 10 Minuten wieder das Ausgangsniveau des Milchdruckes erreicht.

Ein Oxytocin-Antagonist ist das Adrenalin, dessen Ausschüttung aus dem Nebennierenmark durch Schreck- oder Schmerzreaktionen ausgelöst wird und zu einem spontanen Sistieren des Milchflusses führt.

Um bei den eigenen in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen eine möglichst vollständige Entleerung der Milchdrüse sicherzustellen, sollten die Versuchstiere sorgfältig manuell angerüstet und der Milchentzug unter Vermeidung äußerer Störfaktoren durchgeführt werden.

3 Infektion der Milchdrüse

Die von einigen Autoren vertretene Auffassung, daß alle Abschnitte des gesunden, laktierenden Kuheuters von Keimen besiedelt sind, bzw. eine "normale Keimflora" mit den wichtigsten Mastitiserregern enthalten (STECK 1921, RITTER 1931), wurde durch neuere Untersuchungen widerlegt: Von HEIDRICH et al. (1964) unter aseptischen Kautelen durchgeführte Punktionen ergaben, daß die Milch von den Alveolen bis zur Zisterne im gesunden Euter "praktisch" keimfrei ist.

Die häufigste Eintrittspforte für Infektionen und Besiedelungen der Milchdrüse ist der Ductus papillaris (HEIDRICH und RENK 1963, KÄSTLI 1963, NEWBOULD 1964, McDONALD 1968, NEAVE und JACKSON 1971, THOMAS und THIEL 1971), seltener wird das Organ auf percutanem (JAKOB 1956, RENK 1957), lymphogenem (GRUNERT und WEIGT 1964) und hämatogenem (NASSAL 1957, HAUKE et al. 1969) Wege infiziert.
Das Reservoir für die galactogene Infektion und Besiedelung der Milchdrüse ist die Zitzenhaut und der Ductus papillaris, die deshalb in Verbindung mit der vorliegenden Fragestellung näher betrachtet werden.

Kontamination der Zitzenhaut

Die Häufigkeit von Mastitiden, deren Erreger sich auf der Euterhaut vermehren können, veranlaßt FORBES (1968b) zu der Vermutung, daß die Hautflora das wichtigste Reservoir darstellt.

Diese Ansicht wird insbesondere für Staphylokokken vertreten, da sie in der Lage sind, auf der Euter- und Zitzenoberfläche Kolonien zu bilden und sich hier, ohne auffallende pathologische Veränderungen hervorzurufen, stark vermehren können (WILSON und DAVIDSON 1961, DAVIDSON 1963, ORR und TAYLOR 1968, McDONALD 1969, 1970).

DAVIDSON (1961) und WILSON und DAVIDSON (1961) konnten in sechsjährigen Untersuchungen Staphylokokken auf der Zitzenhaut wochen- bis monatelang sowohl bei entsprechender Besiedlung des Milchdrüsengewebes als auch in solchen Fällen, in denen die Euterinfektionen noch nicht stattgefunden hatten oder bereits getilgt waren, nachweisen.

Im Gegensatz zu Staphylokokken vermehrt sich Streptococcus agalactiae nicht außerhalb des Milchdrüsengewebes und hat deshalb auf der Zitzenhaut nur eine beschränkte Lebensdauer (DAVIDSON 1961, WILSON und DAVIDSON 1961).

Dagegen ist die Zitzenhaut für Streptococcus uberis als wichtiges Reservoir anzusehen (CULLEN 1969). Streptococcus dysgalactiae tritt vornehmlich in Verbindung mit Zitzenverletzungen auf (NEAVE und JACKSON 1971).

Nach HEIDRICH und RENK (1963) führt der Kontakt der Zitzenoberfläche mit Mastitiserregern jedoch nicht zwangsläufig zu einer persistierenden Infektion des Euters, z. B. können coliforme Mikroorganismen trotz ständiger Verbindung mit der Zitzenspitze sehr selten in der Milchdrüse nachgewiesen werden.

Kontamination des Ductus papillaris

Im Gegensatz zu den übrigen Abschnitten des Euters ist der Ductus papillaris regelmäßig mit Mikroorganismen besiedelt. RITTER (1931) und SEELEMANN (1942, 1943) fanden in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit Mikrokokken, Staphylokokken, Corynebakterien und Streptokokken. Diese Angaben bestätigen in jüngster Zeit auch FORBES (1969), KLASTRUP (1969), NEAVE (1971) und NEAVE und JACKSON (1971).

Bereits 1934 konnte HOPKIRK (1934) zeigen, daß Mastitiserreger den Strichkanal besiedeln können, ohne daß der dazugehörige Drüsenkomplex infiziert ist. BEECH und FORBES (1965) bestätigen dieses. Nach experimenteller Übertragung konnten sie z. B. Staphylococcus aureus bis zu 18 Wochen lang im Strichkanal nachweisen. Danach blieb der Erreger spontan aus, ohne in die Drüse eingedrungen zu sein. Diese Feststellung deckt sich mit den Beobachtungen von SCHARPE et al. (1962), die in der Praxis eine Strichkanalbesiedlung ohne intramammäre Infektion nachweisen konnten.

FORBES (1968a) untersuchte an 28 Kühen während einer gesamten Laktation die Beziehungen zwischen Besiedlung des Strichkanals und Infektion der Milchdrüse und konnte zeigen, daß 85,7 % der Staphylokokkeninfektionen vom Strichkanal ausgingen. Erst als sich die Infektion im Drüsengewebe lokalisierte, stieg die Zellzahl signifikant an ($P < 0,01$). Er vertritt auch die Ansicht, daß die Infektion des Drüsengewebes durch die Besiedlung des Strichkanals aufrecht erhalten und die Wirkung der Abwehrmechanismen unzureichend werden kann, wenn die Drüse anhaltend vom Strichkanal reinfiziert wird.

Auch Streptokokken können den Ductus papillaris besiedeln. MURPHY und STUART (1953) konnten diese Erreger bereits neun Tage vor dem Beginn der entsprechenden Euterentzündung nachweisen.

Kontamination der Zitzenzisterne

In sehr engem Zusammenhang mit der Besiedlung des Strichkanals muß die Kontamination der Zitzenzisterne gesehen werden, insbesondere ihres distalen, an den Strichkanal angrenzenden Teiles.
NYHAN und PHILLIPS (1968) vertreten die Ansicht, daß die Besiedlung der Zitzenzisterne allein nicht ausreicht, um eine Infektion auszulösen. Im Gegensatz dazu heben Berichte von PHILLIPS et al. (1969), DODD und NEAVE (1970) und FROST und PHILLIPS (1970) die Bedeutung einer Besiedlung der Zitzenzisterne hervor. Versuche von PHILLIPS et al. (1969), FROST und PHILLIPS (1970) und GREEN (1970) zeigen, daß sich vorsichtiges Abmelken aus der Zitzenzisterne vor dem Anrüsten des Euters in einer statistisch gesicherten ($P < 0,01$) Verminderung der subklinischen und klinischen Mastitis gegenüber den Kontrollvierteln äußert. Die Autoren folgern daraus, daß infizierte Milch in der Zitzenzisterne ein geeigneter Träger für die Ausbreitung einer Infektion ist. Bei einem "Abstrippen" bzw. Ausspülen von pathogenen Mikroorganismen aus der Zitzenzisterne müßten ebenso Erreger aus dem Zitzenkanal entfernt werden. Die Versuche von FROST und PHILLIPS (1970) würden somit auch die Annahme bestätigen, daß ein primäres Eindringen einzelner Erreger bis in den Bereich des Strichkanals ausreichen kann, um das gesamte Viertel zu infizieren.

In einem Parallelversuch deuten die Autoren darauf hin, daß unmittelbar nach einer experimentellen Infusion der routinemäßige Milchentzug nicht ausreicht, um die Mikroorganismen auszuspülen. Die Auffassung, daß durch regelmäßiges Melken in die Drüsenhohlräume gelangte Bakterien herausgespült werden (GÖTZE 1931), wäre demnach nur bedingt richtig.

In den Versuchen zu dieser Arbeit sollte das Risiko der Infektion über den Ductus papillaris durch dessen chirurgischen Verschluß eliminiert werden.

2.4 Mikrobielle Kontamination der Rohmilch

Nach OLSON (1962) wird die Milch während der Passage des Strichkanals und dur Kontakt mit der äußeren Zitzenhaut mit 100 - 1 000 Keime/ml Milch kontaminiert.

Luftkeime sind quantitativ von untergeordneter Bedeutung. Im Sommer findet man nach PETTE (1962) nur 10 - 20 Sporenbildner pro ml Milch, in der Stallperiode etwa 100 - 200 pro ml.

Die beim konventionellen Melken unvermeidbare mikrobielle Kontamination der Milch durch die Passage des Strichkanals, durch Melkverunreinigungen, durch Kontakt der Luft und ordnungsgemäß behandelten Oberflächen der Melkeinrichtung liegt in der Größenordnung von 1 000 - 10 000 Keime je ml Milch (KANDLER 1964).

Die bei weitem stärkste Kontamination erfolgt bei unsachgemäßem Melken und insbesondere bei der Berührung der Milch mit ungenügend gereinigten und desinfizierten Oberflächen der Melkanlagen, Aufbewahrungs- und Transportbehälter (bis zu 500 000 Keime je ml Milch nach KÄSTLI, 1963). Darüberhinaus ist der mikrobiellen Beschaffenheit des Spülwassers besondere Bedeutung beizumessen. Die beteiligten Keimarten repräsentieren ein breites Spektrum der mikrobiellen Systematik: Mikrokokken, Streptokokken, coliforme Bakterien, Laktobazillen, Corynebakterien, Staphylokokken, aerobe Sporenbildner, Pseudomonaden, Flavobakterien u. a.

In den eigenen Untersuchungen sollte eine postsekretorische mikrobielle Kontamination der Milch durch aseptische Kautelen verhindert werden.

Fremdmaterialien in der Chirurgie

1 Anforderungen an die Implantate

Fremdmaterialien, die in der Chirurgie Verwendung finden, sind Metalle oder Kunststoffe, die entweder als Ersatz oder zur Unterstützung eines Körperteils in den Organismus implantiert werden.

Die an ein Implantat zu stellenden Anforderungen wurden von SCALES (1953a) definiert. Danach sollen in der Chirurgie eingesetzte Fremdmaterialien:

1. sich durch Körperflüssigkeiten physikalisch nicht verändern,
2. chemisch inert sein,
3. keine Entzündung oder Fremdkörperreaktion hervorrufen,
4. nicht karzinogen sein,
5. keine Allergie oder Hypersensibilität bewirken,
6. mechanischen Belastungen standhalten können,
7. sich leicht verarbeiten und formen lassen,
8. sterilisierbar sein.

2 Metalle

Die in der Chirurgie am häufigsten verwendeten Metalle sind: Edelstahl, Vitallium (Chrom-Cobalt-Molybdän-Legierung), Silber, Nickel und Cobalt. Sie werden hauptsächlich in der Knochenchirurgie bei der Osteosynthese (ROBINSON 1959, YOUNG 1963, KÜNTSCHER 1964), alloplastischen Abdeckung von Schädeldachlücken (OTTO 1950, RAU 1963, CRAIG et al. 1969) und in der Hüftplastik eingesetzt.

Körperreaktionen auf Metallimplantate

Metalle neigen im Organismus zur Ionisation. Nach VENABLE und STUCK (1943), MEARS (1966) und ALLISON (1967) wirken die Ionen und ihre Proteinverbindungen toxisch auf Zellen und Enzyme, was sowohl Gewebsnekrosen als auch Neoblastombildungen zur Folge haben kann.

Die von JERGESEN (1964) und ROYDHOUSE (1968) beschriebenen Körperreaktionen und histologischen Befunde nach Implantation von Metallen gleichen weitgehend denen, die bei Kunststoffen beobachtet werden (FERGUSON et al. 1960, IRMER und SELING 1966).

2.5.3 Kunststoffe

2.5.3.1 Chemie der Kunststoffe

Kunststoffe sind hochmolekulare organische Verbindungen, die entweder durch chemische Veränderungen an hochmolekularen Naturstoffen oder durch Synthese aus kleinen organischen Molekülen aufgebaut sind.
Ihr wichtigstes Kennzeichen ist der hochmolekulare Zustand. Dieser bedingt ihre Unlöslichkeit in den üblichen Lösungsmitteln (OETTEL 1963, KORT 1969).

Die Synthese der Kunststoffe aus kleinen Molekülen erfolgt durch:

1. Polymerisation
   (n-Moleküle lagern sich zu einem Makromolekül zusammen)
2. Polykondensation
   (Moleküle treten unter Abspaltung von Wasser (H_2O) oder Salzsäure (HCl) zusammen.)
3. Polyaddition
   (Moleküle lagern sich ohne H_2O-Abspaltung zusammen.)

Die chemischen Reaktionen führen nicht immer zu vollständigen Umsetzungen, so daß in den polymeren Kunststoffen noch Reste der Monomeren vorhanden sein können. Im Gegensatz zu den Monomeren sind die auspolymerisierten Kunststoffe in der Regel chemisch und biologisch indifferent. Sie werden von Körpersäften und Fermenten nicht angegriffen und dringen nicht in Körperzellen ein (VENABLE und STUCK 1943, ALLISON 1967).

Neben den Rest-Monomeren enthalten viele Kunststoffe noch Katalysatoren, Emulgatoren (Weichmacher), Stabilisatoren (Lichtschutz und Verhinderung des oxydativen Abbaues) und Füllstoffe (CHOYCE 1968).

2.5.3.2 Körperreaktionen auf Kunststoffimplantate

Für den lebenden Organismus sind alle Implantate Fremdkörper, auf die er mit bekannten Abwehrreaktionen antwortet. Diese Reaktionen sind sowohl beim Menschen als auch beim Versuchstier im Prinzip gleich, treten jedoch je nach Verträglichkeit des Implantates mehr oder weniger intensiv auf.

Die Körperverträglichkeit von Kunststoffen ist abhängig von verschiedenen Faktoren:
VENABLE und STUCK (1943), BLAINE (1946), SCALES (1953) und CONTZEN (1965) weisen darauf hin, daß der Gehalt an freien Monomeren und Additiven (Katalysatoren, Emulgatoren und Stabilisatoren), die aus dem Implantat austreten können, auf die Zellen des Implantatlagers toxisch wirken, indem sie den Stoffwechsel der Zellen negativ beeinflussen.

Untersuchungen von LeVEEN und BARBERIO (1949), BROWN, D. E. (1968) und CHOYCE (1968) haben gezeigt, daß zwischen dem Grad der Fremdkörperreaktion und den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Kunststoff-Oberflächen sowie der Implantationsdauer eine enge Beziehung besteht.
Die Körperflüssigkeiten verhalten sich gegenüber Polymeren sehr aggressiv. Mit der Zeit werden nahezu alle hochmolekularen Kunststoffe durch Aufnahme von Wasser und Proteinen depolymerisiert. Diese Reaktion führt zu Zerfallserscheinungen des Implantates. Die Spaltungsprodukte können im angrenzenden Körpergewebe Entzündungen hervorrufen (CONTZEN 1965, MOWBRAY 1965, AUTION 1967).

Ferner scheinen Größe, Form und Beschaffenheit des Implantates das Ausmaß der Körperreaktion mitzubestimmen. NOTHDURFT (1955) und ALEXANDER und HORNING (1959) haben an Ratten nachgewiesen, daß das Auftreten von Neoblastomen proportional zur Implantatgröße zunimmt. Von der Form her werden glatte und abgerundete Implantate vom Organismus eher toleriert als rauhe und scharfkantige, die im Implantatlager teilweise heftige Entzündungen hervorrufen (NOTHDURFT 1955, ALEXANDER und HORNING 1959, CONTZEN 1963, 1965).

Nach der Beschaffenheit des Materials unterscheidet man zwischen impermeablen, perforierten und porösen Kunststoffen. Impermeable Implantate (Platten, Röhren) neigen häufiger zur Neoblastombildung als perforierte (Textilien) oder poröse (Schwämme) (OPPENHEIMER et al. 1953, 1955, OPPENHEIMER 1958, CONTZEN 1963 und BROWN 1968).

SCALES (1953) und CONTZEN (1965) beschreiben, daß Textilien und Schwämme, sofern sie nicht stärker als 2 cm sind, bindegewebig durchwachsen werden und nahezu reaktionslos einheilen.

Neben den oben genannten Faktoren, die alle materialbedingt sind, hat die mechanische Beanspruchung des Implantates im Organismus auf das Ausmaß der Körperreaktion einen nicht unerheblichen Einfluß. Je ruhiger ein Implantat gelagert, d.h. keinen Druck- oder Zugkräften ausgesetzt ist, desto reaktionsloser wird es vom Körper akzeptiert (FRIEDENBERG und LAWRENCE 1959, CONTZEN 1965 und LIPSHUTZ 1966).

Die Frage nach der Kanzerogenität von Kunststoffen ist noch nicht eindeutig beantwortet. Es steht jedoch fest, daß Neoblastome fast ausschließlich bei Ratten und Mäusen (OPPENHEIMER et al. 1953, 1955, und NOTHDURFT 1955) erzeugt wurden, deren Neigung zur Sarkomentstehung bekannt ist. Bei größeren Tieren und beim Menschen ist bis jetzt noch keine Krebsbildung im Implantatlager nach Einbringung von Kunststoffen beobachtet worden (OETTEL 1963, CONTZEN 1965).

Jeder Fremdkörper, der in ein Körpergewebe eingebracht wird, löst zumindest eine lokale Entzündungsreaktion aus, die seine bindegewebige Einscheidung zur Folge hat. Trotz der graduellen Unterschiede zwischen impermeablen und porösen Implantaten läßt der Vorgang der Einkapselung inerter Fremdmaterialien innerhalb der biologischen Variationsbreite eine gewisse Gesetzmäßigkeit erkennen.

Impermeable Implantate

CONTZEN (1963) und SPEIRS und BLOCKSMA (1963) beschreiben den Vorgang der Einscheidung wie folgt:

Vom 1.- 4.Tag post implantationem (p. impl.) erfolgt eine Einsprossung von Blutkapillaren in die Umgebung des Implantates und ein vermehrtes Vorkommen von Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten.

Vom 5.- 7. Tag p. impl. treten Fibroblasten auf.

Nach dem 8. Tag p. impl. setzt die Proliferation von Bindegewebe ein.

Nach Abschluß dieses sterilen Heilungsprozesses bietet sich folgendes histologisches Bild:

Das Implantat ist von einer mehr oder weniger zarten, teils zellreichen, meist hyalinisierten kollagenen Bindegewebsschicht kapselartig umgeben. Die kollagenen Fasern sind konzentrisch um das Implantat angeordnet.

Die innere Begrenzung der Kapsel bilden fibro-histiozytäre Elemente unter gleichzeitigem Auftreten mehrkerniger Riesenzellen und einiger Lymphozyten. Um die Kapsel herum befindet sich eine Zone faserärmeren Bindegewebes, die die Abgrenzung zur Muskulatur bzw. zum Unterhautfettgewebe bildet. In ihr lassen sich vereinzelt Riesenzellen, doppelbrechende Fremdkörpereinschlüsse, Siderophagen und manchmal auch Fremdkörpergranulome beobachten (BRALEY 1964, LEININGER et al. 1964, STINSON 1965, WALTER und CHIARAMONTE 1965, SCHMIDT et al. 1967, FITZPATRICK 1968a, 1968b, McDONALD 1968).

Poröse Implantate

1. Textilien (z. B. Netze, gewebte oder gestrickte Gefäßprothesen nach DeBAKEY und nach EDWARDS)

   Nach CONTZEN (1965) erfolgt bei Textilien der gleiche Abkapselungsprozeß wie bei den impermeablen Formen, jedoch wird hier zusätzlich jeder Faden einzeln eingescheidet.

   Eine Sonderform der Textilien bilden die in der Gefäßchirurgie verwendeten gewebten oder gestrickten Gefäßprothesen (EDWARDS 1957, MORRIS et al. 1959).

Die Annahme von DeBAKEY et al. (1958), HEBERER (1961) und PETRY (1961), daß diese Gefäßprothesen auf längeren Strecken durch Einsprossung von Blutgefäßen und Gewebe mit Endothelbelägen samt elastischen Faserelementen ausgekleidet würden, hat sich nicht bestätigt (POCHE 1963, SZILAGYI et al. 1965). IRMER und SELING (1966) beschreiben, daß die Maschen der Prothesen allein von Thrombocyten und amorphem und fädigem Fibrin ausgefüllt werden. Außerdem kommen vereinzelt organische Fibrillen und stellenweise Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen vor.
Nach IRMER und SELING (1966) erfolgt eine gewisse Neoarteriogenese nur bei Prothesen von höchstens 4 cm Länge. Hier wächst auf der Innenseite der Prothesen das randständige Bindegewebe von den Anastomosen her 1,5 - 2 cm tief ein, so daß die Prothesen bindegewebig einnarben.

2. Schwämme, Filze

Die in der rekonstruktiven Chirurgie implantierten Kunststoffschwämme werden nur bis zu einer Dicke von 2 cm bindegewebig durchwachsen.
Stärkere Implantate wirken wie impermeable Fremdkörper.

Dieses "Durchwachsen" erfolgt von der oben beschriebenen Kapselschicht aus, indem geordnetes, festes Bindegewebe in die randständigen Hohlräume einsprießt. Die zentralen Hohlräume werden von zellig infiltriertem, lockerem Bindegewebe ausgefüllt, das keine metaplastischen Fähigkeiten besitzt. Eine sogenannte Durchwachsung entsprechender Prothesen mit Organgewebe ist biologisch nicht möglich (SCALES 1953, IRMER und SELING 1966).

5.3.3 "Alterung"der Kunststoffe

Untersuchungen von STAEGEMANN (1968) mit einer "Alterungsapparatur" haben ergeben, daß alle Kunststoff-Implantate im Gewebe Alterungsveränderungen unterliegen, die eine deutliche Herabsetzung der mechanisch-physikalischen Eigenschaften (wie Elastizität und Reißfestigkeit) zur Folge haben.
HENKEL (1960) bezeichnet diese Abbauvorgänge als irreversiblen Vorgang, der funktionell-mechanisch und elektrisch bedingt sein kann.

Hauptsächlich werden diese Reaktionen durch Wasser- und Proteinaufnahme und Depolymerisation hervorgerufen. So zeigen z. B. Nylon und Perlon infolge ihres hohen Wasseraufnahmevermögens von 4 - 5 Vol% bereits nach sechs Monaten Zerfallserscheinungen, während Teflon, Dacron, Acrylglas und Polyäthylen, die praktisch kein Wasser absorbieren, noch nach drei Jahren ihre ursprünglichen Eigenschaften besitzen (HARRISON 1958a, 1958b, 1959, PETRY 1961, LEININGER et al. 1964, MOWBRAY 1965, STINSON 1965, IRMER und SELING 1966 und CHOYCE 1968).

2.5.3.4 Die wichtigsten Kunststoffe in der Chirurgie

Nach Angaben von VENABLE und STUCK (1943), OETTEL (1963), BROWN (1968) und DAVILA et al. (1968) werden in der alloplastischen Chirurgie die nachstehend beschriebenen Kunststoffe am häufigsten eingesetzt.

2.5.3.4.1 Polytetrafluoräthylen - PTFE - (Teflon - W. Z. Du Pont)

Teflon ist ein Polymer, bestehend aus langen Tetrafluoräthylen-Ketten

$$(- CF_2 - CF_2) \; n.$$

Nach Angaben von LeVEEN (1949), BROWN (1968) und FITZPATRICK (1968b) zeichnet es sich durch gute Körperverträglichkeit aus, da seine Oberfläche weder Wasser noch Protein aufnimmt. Diese Unbenetzbarkeit bedingt ferner eine lange Lebensdauer des Materials im Organismus (HARRISON 1958a, 1958b und 1959, LEININGER et al. 1964). Es besitzt eine große mechanische Festigkeit und läßt sich nur schwer verarbeiten, so daß seine Verwendung nur auf einige wenige Formen begrenzt bleibt.

Teflon wurde mit unterschiedlichem Erfolg in der Knochenchirurgie eingesetzt. Sein Hauptindikationsgebiet liegt heute in der Gefäßchirurgie, in Form gestrickter oder gewebter Gefäßprothesen nach EDWARDS (EDWARDS 1957, HEBERER 1961, HARRISON 1967 und SZILAGYI et al. 1964).

2.5.3.4.2 Polyäthylenglykolterephthalat (Dacron - W. Z. Du Pont)

Dacron ist ein Polyester der Terephthalsäure

$$(- OC - R - COO - \acute{R} - O -)_n$$

Es ist ein unelestisches Material und wird deshalb hauptsächlich in Form von Textilien verwendet.

Bei zahlreichen Implantationen wurde es vom lebenden Organismus nahezu reaktionslos akzeptiert und zeigte im Körpergewebe nur eine geringe Alterungstendenz (HARRISON 1958a, 1958b, 1959, SZILAGYI et al. 1964). Gleich dem Teflon dient Dacron in der Gefäßchirurgie als gestrickte oder gewebte Prothese nach DeBAKEY als Arterienersatz (DeBAKEY et al. 1958, MORRIS et al. 1959 und PETRY 1961).

2.5.3.4.3 Silikonkautschuk (Silastic - W. Z. Dow Corning, Wacker Paste R 950 VE)

Er ist ein Polymer aus Dimethylsiloxan

$$\left[\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ - Si - O \\ | \\ CH_3 \end{array}\right]_n$$

Von BRALEY (1963, 1964) wird darauf hingewiesen, daß der in der Medizin verwendete Silikonkautschuk frei von Additiven sein muß. Silikonkautschuk, der diese Anforderungen erfüllt, wird als "medical grade" bezeichnet. Er ruft im Organismus nur geringe Fremdkörperreaktionen hervor (ROWE et al. 1948, LEININGER et al. 1964, DAVILA et al. 1968), da seine Oberfläche weder Wasser noch Proteine absorbiert (BROWN 1968).

Beim Silikonkautschuk unterscheidet man zwei Formen:

1. RTV (Room Temperature Vulcanizing)
   Dieser flüssige Silikonkautschuk vulkanisiert bei Zimmertemperatur aus. In der alloplastischen Chirurgie der Humanmedizin wird er mit einer Kanüle in das Gewebe, das er auffüllen soll, z. B. Nase, Stirn, Brust, injiziert. Eine Variante des RTV-Silikonkautschuks ist der Silikonkautschukkleber.

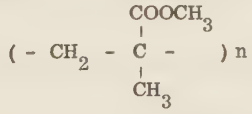
2. HV (Heat Vulcanizing)

Dieses Ausgangsmaterial benötigt zur Polymerisation hohe Temperaturen und eignet sich deshalb nur zur fabrikmäßigen Silikonkautschukfabrikation. Größere Formen wie Schläuche und Folien bestehen aus HV-Silikonkautschuk.

Silikonkautschuk ist ein hochelastisches Material, das sich allen Körperformen und -bewegungen anpassen kann. Ein Nachteil liegt in seiner geringen Kerbfestigkeit: Schon kleine Oberflächenverletzungen können zu seinem Reißen führen.

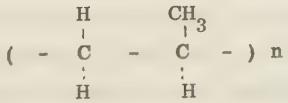
Um jedoch die gewebefreundlichen Eigenschaften des Silikonkautschuks auch unter schwierigen mechanischen Bedingungen nutzen zu können, wurden von KALAMBAHETI (1965) und PATTERSON (1969) Materialien, die wohl eine größere Reißfestigkeit, dafür aber eine schlechtere Gewebeverträglichkeit besitzen, mit Silikonkautschuk überschichtet. Der Anwendungsbereich von Silikonkautschuk in der Chirurgie ist sehr vielseitig. So werden heute z. B. Knochen, Sehnen, Blutgefäße, Herzklappen, Harnleiter, Ohrmuscheln und Brustgewebe durch Prothesen aus Silikonkautschuk ersetzt (BROWN et al. 1960, NELSON und IVINS 1965).

4.4 Polymethylmetakrylat (Acrylglas)



Acrylglas ist gewebefreundlich und zeigt nur eine geringe Alterungstendenz. Es läßt sich gut verarbeiten und wurde im Anfang der Kunststoffchirurgie zur Abdeckung von Schädeldefekten und als Hüftknochenersatz verwendet (STINSON 1965, ALLISON 1967).

4.5 Polypropylen



Es wird hauptsächlich in Schwammform implantiert. Polypropylen ist gegen Körpersäfte weitgehend resistent und zeigt nur schwache Fremdkörperreaktionen (DAVILA et al. 1968).

2.5.3.4.6 Polyäthylen, Polyäthylenvinylacetat (Lupolen V - W. Z. BASF)

$$(- CH_2 - CH_2 -)\, n$$

Polyäthylen ist ein Thermoplast, der als Implantat gut verträglich ist und erst nach langer Zeit Zersetzungserscheinungen zeigt (LEININGER et al. 1964 STINSON 1965 und DAVILA et al. 1968).

2.5.3.4.7 Polyvinylchlorid (PVC)

$$(- CH_2 - \underset{\displaystyle Cl}{\underset{|}{CH}} -)\, n$$

PVC eignet sich nur für Kurzzeitimplantate, da es einen hohen Prozentsatz von Weichmachern enthält, die vom Gewebe herausgelöst werden und dann zu entzündlichen Veränderungen führen können (LITTLE 1968).

2.5.3.4.8 Polyamide (Nylon W. Z. Du Pont , Perlon W. Z. Bayer)

$$(- CO - R - NH)\, n$$

Sie sind ebenfalls nur für Kurzzeitimplantate brauchbar, da sie ein Wasseraufnahmevermögen von 4 - 5 Vol% besitzen und bereits nach etwa 6 Monaten Zerfallserscheinungen zeigen (FERGUSON et al. 1960, OETTEL 1963, KORT 1969).

2.5.3.4.9 Glas

Wird ebenfalls zu den Kunststoffen gerechnet, da es chemisch ein makromolekulares Silikat ist. Die Verwendung von Glas in der Chirurgie ist infolge der Br gefahr und der damit verbundenen Komplikationen auf einige wenige Bereiche b schränkt (KORT 1969).

In der Tabelle 1 sind einige chemische und physikalische Eigenschaften von Polytetrafluoräthylen, Polyäthylenglykolterephthalat und Silikonkautschuk angegeben (Informationsmaterial der Hersteller).

Eigenschaft	Einheit	Polytetrafluoräthylen	Polyäthylenglykolterephthalat	Silikonkautschuk
Dichte	g/cm^3	2,14 - 2,18	1,38	1,20 - 1,30
Reißfestigkeit	Kp/cm^2	230 - 350	30 - 100	35 - 70
Reißdehnung	%	330 - 500	25 - 48	100 - 475
Shore-Härte		55 - 59	30	45 - 80
Schmelzpunkt	°C	327	259	340
Temperaturanwendungsbereich	°C	- 200 bis + 260	- 40 bis + 160	- 60 bis + 180
Chemikalienbeständigkeit				
Säuren		ja	ja	ja
Laugen		ja	ja	ja
Wasseraufnahme		nein	nein	nein

PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN DER IN DER CHIRURGIE AM HÄUFIGSTEN EINGESETZTEN KUNSTSTOFFE

Tab. 1

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material

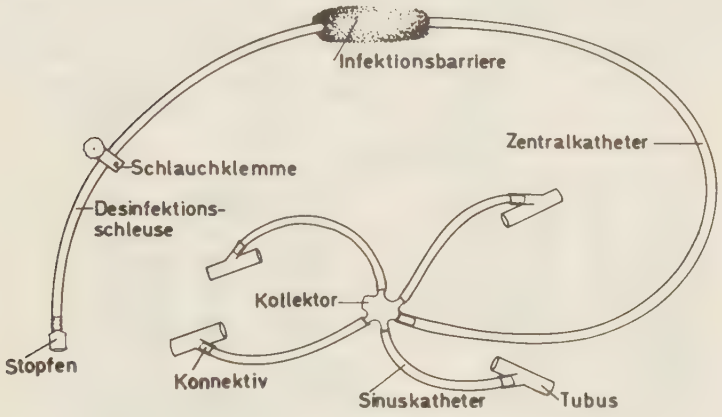
3.1.1 Versuchstiere

Für die Versuche standen 12 Kühe der Rasse "Deutsche Schwarzbunte" zur Verfügung, von denen sich 8 Tiere in der ersten Laktation und 4 Tiere in der zweiten Laktation befanden. Sie waren klinisch gesund und in gutem Ernährungszustand. Besonderer Wert wurde auf eine ausgeglichene Euterform gelegt, wobei Form und Durchmesser der Zitzen so gestaltet waren, daß sie ein komplikationsloses Einbringen des Tubus und Sinuskatheters erwarten liessen. Die Milchleistung betrug mindestens 10 Liter pro Tag. Sämtliche Tiere befanden sich, entsprechend der Definition des Internationalen Milchwirtschaftsverbandes über die Kategorien der Eutergesundheit, in "normaler" Sekretion (bakteriologisch negativ, Zellzahl < 500 000/ml). Die Versuchstiere wurden in Zeitreihenversuchen eine Woche vor der Katheterimplantation täglich auf folgende Merkmale hin untersucht:

Klinisches Verhalten: Atmung, Temperatur, Puls
Milchmenge
Anfangsviertelgemelk: bakteriologisch
quantitativ zytologisch

.1.2 Katheterkonstruktion

Die bei den einzelnen Versuchen implantierten Kathetersysteme entsprachen, obwohl in Form und Material modifiziert, alle einer Grundkonstruktion, die in Abbildung 2 dargestellt wird.
Die einzelnen Teile werden nachfolgend detailliert beschrieben.



SCHEMA DER KATHETERKONSTRUKTION

Abb. 2

1.2.1 Tubus

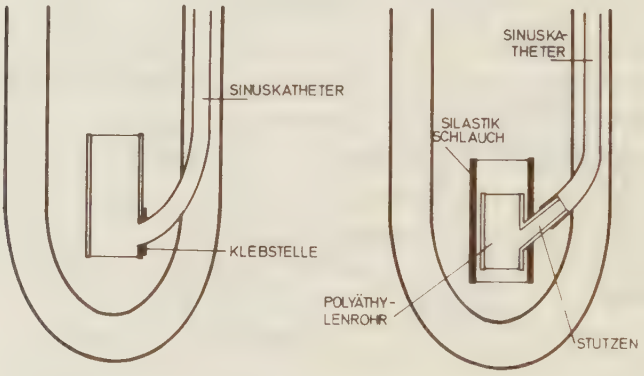
Er wird in die Drüsenzisterne eingebracht und saugt dort die Milch an.
Der Tubus ist in unmittelbarem Kontakt mit der Schleimhaut der Milchdrüse. Damit die empfindliche Mucosa nur minimal irritiert wird, ist ein chemisch inertes, elastisches, aber dennoch formbeständiges Material mit glatter Oberfläche und ohne Kanten für die Tubuskonstruktion erforderlich.

Besonderer Wert wurde auf einen raumsparenden Übergang vom Tubus zum Sinuskatheter gelegt, da in der Submucosa des Striches nur wenig Gewebe für die Implantation zur Verfügung steht.

Folgende Tubuskonstruktionen fanden in den Versuchen Anwendung:

Zylindrischer Tubus aus Silastic, geklebt

Er besteht aus einem Silastic-Schlauch 8 x 10 mm und hat eine Länge von 5 cm. Der Abgang zum Sinuskatheter wurde im Winkel von ca. 18° am Tubusgrund mit Silastic-Medical-Adhesive A angeklebt. Die Endkanten des Tubus waren durch Schleifen abgerundet worden (vgl. Abb. 3).



Zylindrischer Tubus
(Silastic geklebt)

Zylindrischer Tubus mit Stutzen
(Silastic, Polyäthylen)

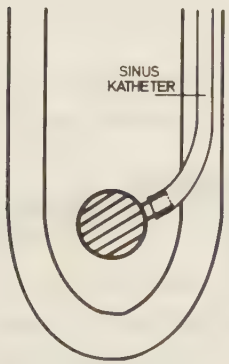
Abb. 3 + 4

Zylindrischer Tubus mit Ansatzstutzen im spitzen Winkel aus Silastic und Polyäthylen

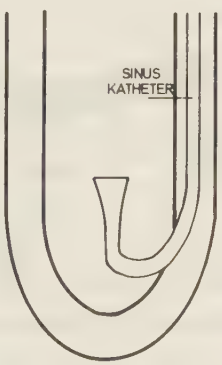
Er ähnelt in der Gestalt der vorhergehenden Form, jedoch mit dem Unterschied, daß hier der Silastic-Schlauch über ein Y-förmiges Polyäthylenrohr gezogen wurde, dessen freier Schenkel den Abgangsstutzen zum Sinuskatheter bildet (vgl. Abb. 4).

Körbchenförmiger Tubus aus Teflon

Diese Form wurde aus einer hohlen Teflonkugel mit einem Außendurchmesser von 15 mm und einer Wandstärke von 2 mm gefertigt. Die Wand der Kugel ist in jeweils 2 mm-Abständen 3 mm breit durchbrochen. An einem Pol der Kugel ist ein 10 mm langer Teflonrohrstutzen (4, 5 x 6 mm) mit einem Feingewinde angearbeitet, das in den Sinuskatheter eingeschraubt wird. Im Gegensatz zu allen anderen Tubuskonstruktionen, die mit dem Sinuskatheter einen spitzen Winkel bilden und senkrecht in der Drüsenzisterne stehen, bildet der körbchenförmige Tubus, wie in Abb. 5 dargestellt, mit dem Sinuskatheter eine Gerade, so daß er frei in der Zisterne hängt.



Körbchenförmiger Tubus
(Teflon)



Kelchförmiger Tubus
(Lupolen V)

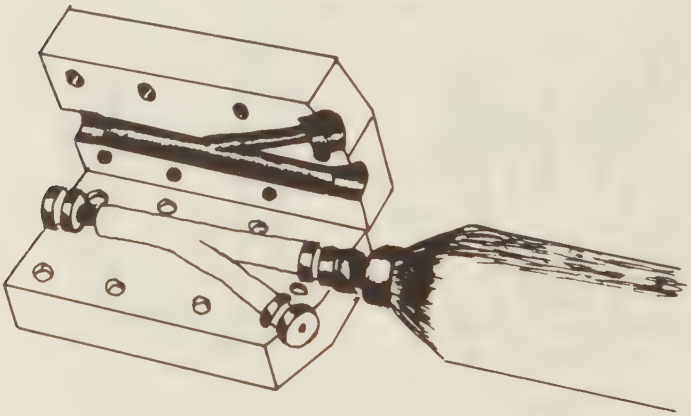
Abb. 5 + 6

Kelchförmiger Tubus aus Polyäthylenvinylacetat (Lupolen V)

Lupolen V ist ein thermoplastischer Kunststoff, d. h., er kann unter Einwirkung von Wärme verformt werden. Deshalb konnten bei dieser Konstruktion Tubus und Sinuskatheter aus einem Stück gefertigt werden. Ein Lupolen-V-Schlauch wurde im Wasserbad (90 ^{o}C) mit einem Radius von 7 mm U-förmig gebogen, ein Schenkel des U auf eine Länge von 5 cm gekürzt und dann mit einem kegelförmigen Instrument trichterförmig erweitert. Der andere Schenkel bildet den Sinuskatheter und wird mit einer Ligatur an den Kollektor gekoppelt (vgl. Abb. 6).

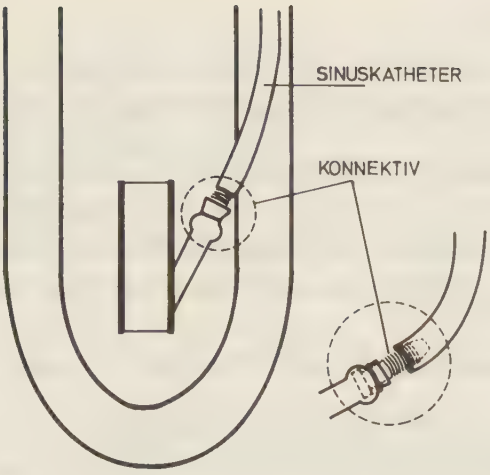
Zylindrischer Tubus aus Silikonkautschuk, gespritzt

Bei dieser Konstruktion, die im Aussehen dem zylindrischen Tubus - geklebt - entspricht, wurde der Tubus mit dem Ansatzstutzen für den Sinuskatheter in einem speziell hierzu angefertigten Werkstück (vgl. Abb. 7) aus einer Silikonkautschukgrundmasse (Wacker, Paste R 950 VE) im Spritzgußverfahren hergestellt. Die Grundmasse wurde unter Druck in das Werkstück gepreßt und härtete bei einer Temperatur von 140°C/60 Minuten aus. Nach der Entformung mußte das Material 12 Stunden lang bei 150°C zur Entfernung des Vernetzers getempert werden (vgl. Abb. 8).



WERKZEUG ZUR HERSTELLUNG DES TUBUS IM SPRITZGUSSVERFAHREN

Abb. 7

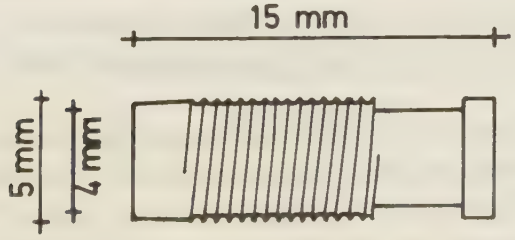


Zylindrischer Tubus
(Silikonkautschuk-gespritzt)

Abb. 8

1.2.2 Konnektiv

Sofern Tubus und Sinuskatheter nicht aus einem Stück gefertigt waren (kelchförmiger Tubus) oder direkt miteinander verbunden wurden (körbchenförmiger Tubus), erfolgte die Koppelung der beiden Teile mit einem Konnektiv.
Die Konnektive bestehen wahlweise aus einem Polyäthylen- oder Acrylglasrohr (4 x 6 mm) von 15 mm Länge. Die Enden sind mit zwei Oliven bzw. einer Olive und einem Feingewinde versehen (vgl. Abb. 9).



KONNEKTIV

Abb. 9

3.1.2.3 Sinuskatheter

Vom Tubus wird die Milch zunächst über den Sinuskatheter, der über den Kollektor mit dem Zentralkatheter in Verbindung steht, abgeleitet.

An die Elastizität, Flexibilität und Stabilität des Materials wurden hohe Ansprüche gestellt, um den wechselnden Druck- und Zugwirkungen Rechnung zu tragen, die durch einen unterschiedlichen Füllungszustand der Milchdrüse zwischen den Melkzeiten und jede Art von Bewegung des Tieres bedingt sind.

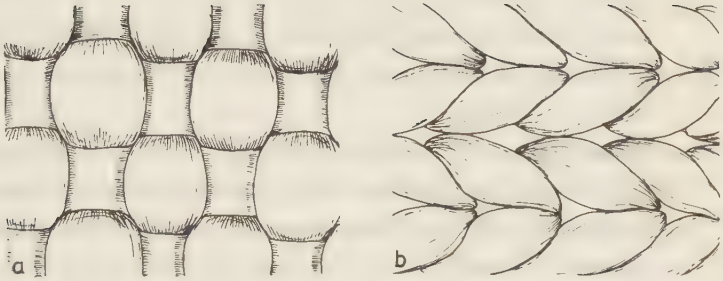
Bei den Versuchen wurden folgende Materialien verwendet:

Katheter aus Silikonkautschuk (Silastic)
Sie hatten einen Außendurchmesser von 6 mm und einen Innendurchmesser von 4 mm, ihre Länge betrug ca. 15 cm.

Katheter aus Polyäthylenvinylacetat (Lupolen V)
Dieser Sinuskatheter war wie unter 3.1.2.1 beschrieben zusammen mit dem Tubus aus einem Stück gefertigt. Der Lumendurchmesser betrug 4 mm und die Wandstärke 1 mm. Er war etwa 15 cm lang.

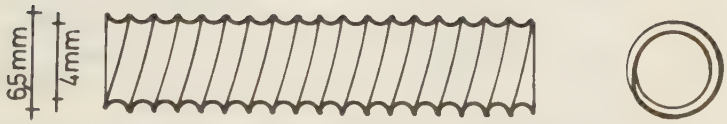
Katheter aus einer Dacron-Gefäßprothese nach DeBAKEY
Während die Silikonkautschuk- und Polyäthylenvinylacetatkatheter aus einem Guß sind, sind die Gefäßprothesen gewebt oder gestrickt. Die Abbildung 10 zeigt einen vergrößerten Ausschnitt einer gewebten bzw. gestrickten Gefäßprothese. Diese Dacronkatheter haben zwar als Faltenbälge den Vorteil einer hohen Elastizität und Flexibilität, sind dagegen aber gegenüber den im Euter herrschenden Druckverhältnissen nicht genügend formstabil. Um auch unter extremen Belastungen ein Kollabieren zu verhindern, mußte der Katheter mit einer Schraubenfeder aus hochveredeltem Stahl armiert werden (vgl. Abb.

Ein Eindringen von Gewebeflüssigkeit aus der Katheterperipherie in das Katheterlumen durch die Poren des Dacrongewebes ist durch einen Überzug aus Silastic-Medical-Adhesive-A-Kleber unterbunden worden. Der Lumendurchmesser betrug 4 mm, der Außendurchmesser 6,5 mm und die Länge ca. 15 c



VERGRÖSSERTER AUSSCHNITT EINER GEWEBTEN (a) UND GESTRICKTEN (b) GEFÄSSPROTHESE AUS DACRON

Abb. 10



SINUSKATHETER AUS DACRON
(Gefäßprothese mit Schraubenfeder)
(Querschnitt)

Abb. 11

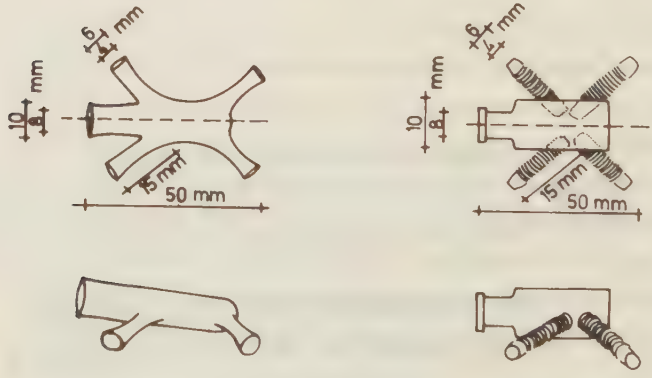
3.1.2.4 Kollektor

Die vier Sinuskatheter münden in den Kollektor, dessen Zentrallumen der Summe der Sinuskatheterquerschnitte entspricht.
Im Sulcus intermammaricus subcutan verlegt, ist er ebenfalls starken Zug- und Druckkräften ausgesetzt. Das Material muß nicht nur inert, sondern auch äußerst stabil sein.
Von der Form her soll der Kollektor so gestaltet sein, daß er sich einerseits dem sich dorsal verengenden Raum im Sulcus intermammaricus anpaßt und andererseits die Verbindungsstutzen zu den Sinuskathetern wenig Spannung entstehen lassen.

Bei der Kollektorkonstruktion wurden zwei Materialien verwendet:

Kollektor aus Glas

Diese Form besteht aus einem 5 cm langen Glasrohr (8 x 10 mm), das an einem Ende verschmolzen und am anderen mit einer Olive versehen ist. Von diesem Zylinder gehen vier ebenfalls in einer Olive endende Glasstutzen (4 x 6 mm) im Winkel von 25° seitlich ab (vgl. Abb.12).



Kollektor aus Glas Kollektor aus Acrylglas

Abb. 12 + 13

Kollektor aus Acrylglas

Sein Aussehen ähnelt dem Glaskollektor. Er unterscheidet sich allein darin, daß anstelle der Oliven die Abgangsstutzen ein Feingewinde aufweisen, auf das die Sinuskatheter geschraubt werden (Abb. 13).

1.2.5 Zentralkatheter

Vom Kollektor wird die Milch aller vier Drüsenkomplexe in den Zentralkatheter geleitet, der in einem weiten Bogen durch den Sulcus intermammaricus soweit möglich nach caudal und von dort dorso-lateral subcutan in Richtung Plica subilica führt. Wenige Zentimeter ventro-medial der Plica subilica passiert er die Abdominalhaut und endet ca. 10 cm außerhalb des Tierkörpers in einer Desinfektionsschleuse.

Der Zentralkatheter hat in hohem Maße den Bewegungen des Tieres und den physiologischen Größenveränderungen der Milchdrüse nachzugeben, muß also ähnlich dem Sinuskatheter sich durch besondere Elastizität, Flexibilität und Stabilität auszeichnen.

Als Material für den Zentralkatheter wurde Silastic (Medical grade) mit einem Lumendurchmesser von 8 mm, einem Außendurchmesser von 10 mm und einer Länge von 1,2 m verwendet.
Dieses Silastic-Material ist im Bereich außerhalb Tier durch seine geringe Kerbfestigkeit gefährdet, d. h. schon geringgradige Verletzungen seiner Oberfläche neigen zum "Weiterreißen".

1.2.6 Infektionsbarriere

Ein entscheidendes Problem bei der Implantation des Kathetersystems besteht in der Verhinderung perikathetraler Infektionen. Aus diesem Grunde wurde in der Plica subilica subcutan eine Infektionsbarriere dadurch geschaffen, daß der Zentralkatheter in diesem Bereich mit einer ca. 5 cm breiten und 1,5 cm starken Manschette aus grobporigem Polypropylen-Schwamm umgeben wurde, die mit Medical-Adhesive-A-Kleber mit dem Zentralkatheter fest verbunden ist. Die Poren des Schwammes werden nach der Implantation bindegewebig durchwachsen.

Außer dem Infektionsschutz wird dadurch auch eine Fixation des Zentralkatheters erzielt.

Neben dieser physikalischen Barriere ist durch ein halbsynthetisches Penicillin (Cloxacillin =Orbenin-Suspension - siehe Anhang), das auf den Polypropylen-Schwamm aufgetragen wurde, eine chemische Barriere geschaffen worden. Die Abbildung 14 zeigt einen Querschnitt durch die Infektionsbarriere.

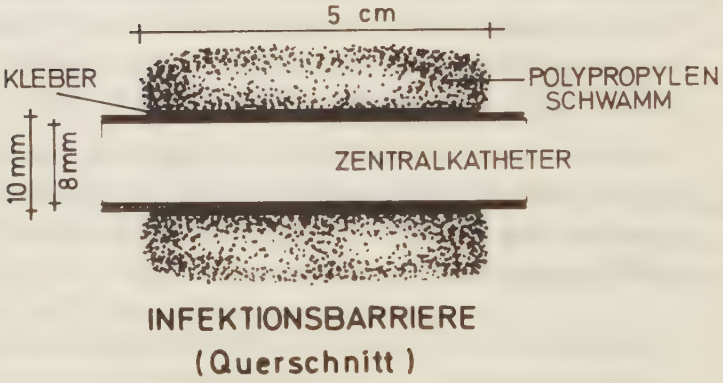


Abb. 14

3.1.2.7 Desinfektionsschleuse

Um ein Eindringen von Mikroorganismen durch das Katheterlumen auszuschließen, befindet sich am Ende des Zentralkatheters eine Desinfektionsschleuse, die proximal von einer Schlauchklemme und distal von einem Verschlußstopfen gebildet wird (vgl. Abb. 2). Das dazwischenliegende Lumen der Schleuse wird nach dem Milchentzug mit einer Desinfektionslösung beschickt, z. B. 0,5 %iges Formalin.

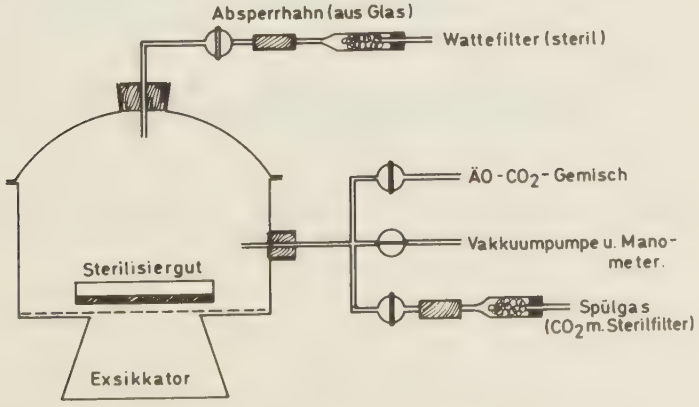
METHODIK

1 Kaltsterilisation des Kathetersystems und der Plastikfolienbehälter mit gespanntem Äthylenoxyd

Äthylenoxyd (C_2H_2O) wirkt bereits in geringer Konzentration bei einer Einwirkungszeit von 12 bis 48 Stunden mikrobizid. Seine Wirkung beruht vermutlich darauf, daß es mit der Karboxylgruppe der Proteine eine nicht lösbare Verbindung eingeht.
Das Äthylenoxyd hat die Fähigkeit, Folien aus PVC und Polyäthylen zu penetrieren, so daß das Sterilisationsgut vorher verpackt werden kann (FINSTERBUSCH 1964, KÖCHEL 1966).

Das Kathetersystem und die für den aseptischen Milchentzug verwendeten Plastikfolienbehälter werden nach dem von WALLHÄUSSER und SCHMIDT (1967) beschriebenen Prinzip wie folgt sterilisiert:

Ein Glasexsikkator wird mit dem Sterilisationsgut beschickt, mit einer Vakuumpumpe evakuiert, mit CO_2 gefüllt und erneut evakuiert. Dieser Spülvorgang wird 2 - 3 mal wiederholt. Anschließend füllt man den Exsikkator mit einem Äthylenoxyd-Kohlendioxyd-Gemisch im Verhältnis 20 : 80, unter Beibehaltung eines geringen Unterdruckes. Reagiert das Sterilisationsgut mit dem Äthylenoxyd, so steigt das Vakuum mehr oder weniger rasch an. Die Sterilisationsdauer beträgt mindestens 12 Stunden. Nach Abschluß der Sterilisation evakuiert man den Exsikkator und spült einige Male mit CO_2 (über Sterilfilter) nach. Die nachstehende Abbildung 15 zeigt ein Schema der Sterilisationseinrichtung.

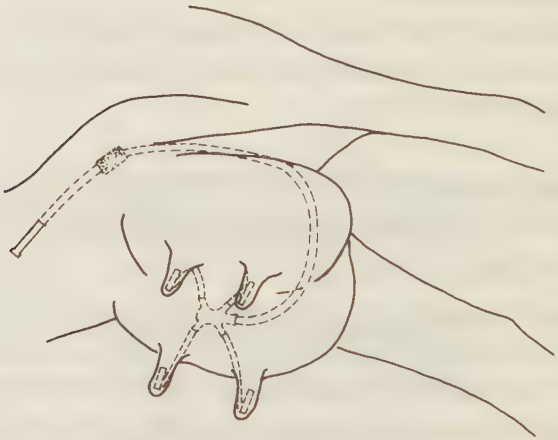


Anordnung zur Äthylenoxydsterilisation

Abb. 15 (nach WALLHÄUSSER und SCHMIDT)

4.2 Operationstechnik zur Implantation der Katheter

Die folgende Abbildung 16 veranschaulicht die topographischen Verhältnisse des Operationsfeldes, in das das subcutan liegende Kathetersystem eingezeichnet ist.



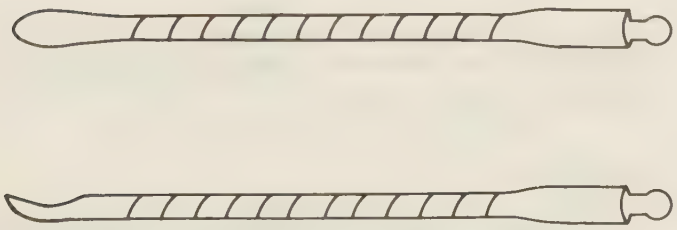
OPERATIONSFELD MIT SUBCUTAN VERLEGTEM KATHETERSYSTEM

Abb. 16

4.2.1 Operationsvorbereitungen

4.2.1.1 Instrumentarium

Um bei der Implantation der Zentral- und Sinuskatheter lange Hautschnitte zu vermeiden, werden die Katheterabschnitte über eine längere Distanz subcutan mit Hilfe spezieller Einführungsinstrumente eingezogen. Diese Instrumente wurden aus flexiblem Edelstahlrohr gefertigt und mit einer löffelförmigen Spitze versehen, die das subcutane Bindegewebe stumpf durchtrennt und ein Abgleiten in das tiefer gelegene Parenchym verhindert. Die Einführungsinstrumente enden mit einer Olive, an die die zu implantierenden Katheter mit einer Ligatur gekoppelt werden. Mit einer großen Ausführung dieses Instrumentes (Länge: 500 mm, Durchmesser: 8 mm) wird der Zentralkatheter, mit einer kleinen (Länge: 160 mm, Durchmesser: 6 mm) werden die Sinuskatheter eingezogen (vgl. Abb. 17).



KATHETEREINFÜHRUNGSINSTRUMENT

Abb. 17

Das für die Durchführung der Operation erforderliche Instrumentarium wird vor dem Operationsbeginn steril hergerichtet und besteht aus:

1 Abdecktuch 1,5 x 1,5 m mit einer Öffnung von 60 x 60 cm zum Abdecken der Umgebung des Operationsfeldes
10 Tuchklemmen
2 Paar Gummihandschuhe
2 gebaute Einweg-Skalpelle
4 ESMARCH-Schläuche zur Blutstauung an der Zitzenbasis
2 gerade Scheren
1 krumme Schere
Je eine grobe und feine chirurgische Pinzette
6 kleine gebogene Péanklemmen zur Blutstillung
Je ein großer und kleiner Katheterführer
1 Nadelhalter
6 Heftnadeln, Größen 5, 10, 14
3 Recordspritzen 10 ccm, für Anästhesie und Oxytocingabe
2 Recordspritzen 20 ccm, für die intrazisternale Applikation von Antibiotika
1 Recordspritze 200 ccm, zum Spülen des Katheter-systems
4 Kunststoffkanülen
20 Tupfer
1 Pansentrokar nach GÖTZE

Als Nahtmaterial und für Katheter-Ligaturen werden Filovet stark, mittel und fein (siehe Anlage) verwendet.

4.2.1.2 Kathetersystem

Vor der Operation werden die Sinuskatheter (durch Anschrauben oder mit einer Ligatur) an den Kollektor und die Tubi (mit einer Ligatur) an die Konnektive gekoppelt.

Dann werden die Katheterteile gründlich in einer milden Seifenlösung gewaschen und in physiologischer Kochsalzlösung mehrmals ausgespült. Nach dem Trocknen werden sie in Polyäthylenfolien luftdicht eingeschweißt und durch Äthylenoxyd-Begasung sterilisiert (vgl. 4.1).

4.2.1.3 Operationsfeld

Einen Tag vor der Operation werden mit einem Depilatorium im Bereich des Operationsfeldes die Körperhaare entfernt. Nachdem das Tier mit der rechten Körperseite auf den Operationstisch (Modell Richard-GÖTZE-Institut) niedergelegt ist, wird das Operationsfeld gründlich mit warmem Wasser, Seife und Bürste gereinigt und mit Spitacid (siehe Anhang) desinfiziert. Anschließend werden die das Operationsfeld begrenzenden Körperpartien mit dem sterilen OP-Tuch abgedeckt.

4.2.2 Medikation

4.2.2.1 Praemedikation

Etwa 15 Minuten vor der Operation erhält das Tier als

Infektionsprophylaxe: 120 ml Supronal-Lösung i. v. (siehe Anhang)
30 ml Tardomyocel comp. III i. m. (s. Anhang)

Antitympanikum: 100 ml Bophysin p. o. (siehe Anhang)

Kurz vor dem Niederlegen werden als Sedativum, Analgetikum, Anästhetikum und Muskelrelaxans appliziert:

5 - 6 ml Rompun i. m. (siehe Anhang)

Um eine völlige Schmerzausschaltung zu erreichen, erfolgt zusätzlich an der Zitzenbasis eine zirkuläre Infiltrationsanästhesie. Dabei werden von zwei Einstichstellen aus mit feiner Kanüle unter allmählichem Zurückziehen etwa 10 ml Tutocain 2 % (siehe Anhang) je Strich ringförmig um die Zitzenbasis verteilt (BERGE und WESTHUES 1969).

4.2.2.2 Operative Medikation

Während der Operation werden folgende Medikamente eingesetzt:

8 Tuben Orbenin-Suspension (siehe Anhang)
zur Keimhemmung im Bereich der Infektionsbarriere und des Kollektors und als Gleitmittel für die Katheter

2 ml Oxytocin i. v.
zum vollständigen Entleeren der Milchdrüse nach Abschluß der Operation

80 ml Tardomyocel-L-Suspension (siehe Anhang)

oder

60 ml Aureomycin-Suspension 2,5 %ig (siehe Anhang)
als intrazisternale Infektionsprophylaxe

MDP-Puder (siehe Anhang) und

Leukomycin-Spray 1 % (siehe Anhang)
zur postoperativen Wundbehandlung

4.2.3 Operationstechnik

Anatomische Vorbemerkungen zum Operationsfeld

Für die Implantation des Kathetersystems ist die Kenntnis der anatomischen Verhältnisse im Bereich der Zitzen und des Sulcus intermammaricus von besonderem Interesse, da hier während der Operation Komplikationen, besonders durch Blutungen, auftreten können.

Die dünne Zitzenwand besteht aus mehreren Schichten: Äußere Haut (Cutis), Unterhautbindegewebe (Subcutis), Gefäß- und Muskelzone und Schleimhaut (Tunica mucosa). Die Gefäßversorgung erfolgt hier durch absteigende Äste der Arteria und Vena mammaria cranialis und caudalis. Am Übergang vom Zitzen- zum Drüsenteil der Zisterne (Ductus lactiferus) liegt in einer Falte der FÜRSTENBERG'sche Venenring (Circulus venosus papillae), der hauptsächlich durch Anastomosen der absteigenden Äste der Vena mammaria cranialis gebildet wird.

Um den Venenring nicht zu verletzen und unnötige Läsionen der Zitzenschleimhäute zu vermeiden, muß bei der Implantation der Sinuskatheter sorgfältig darauf

geachtet werden, daß das Kathetereinführungsinstrument nur in der Subcutis vorgeschoben wird.

Im Sulcus intermammaricus, der Implantationsstelle des Kollektors, werden regelmäßig mehr oder weniger große Haut- oder Oberflächenvenen angetroffen, die in von Tier zu Tier unterschiedlichem Verlauf zur Vena subcutanea abdominis ziehen. Um sie nicht zu perforieren, muß bei der Präparation der Kollektortasche vorsichtig vorgegangen werden.

Die nachstehende Abbildung zeigt einen Medianschnitt durch die Milchdrüse der Kuh und einen Querschnitt durch eine Zitze.

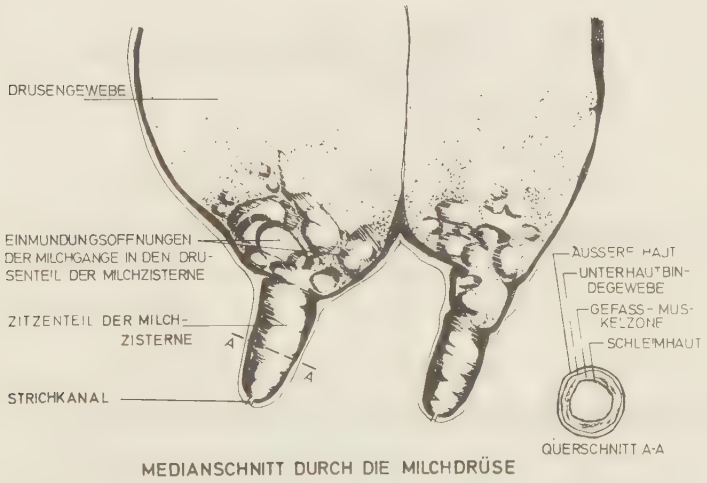
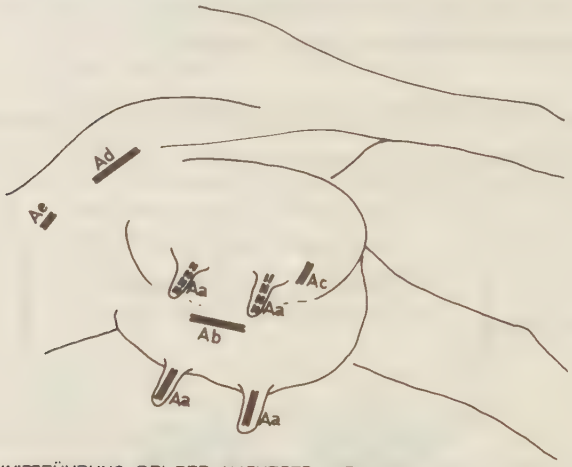


Abb. 18 (nach DOBBERSTEIN und HOFFMANN)

Die Katheterimplantation erfolgt in mehreren Phasen entsprechend der nachstehend beschriebenen Schrittfolge. Die Operationsdauer beträgt 60 - 90 Min.

A Schnittführung (vgl. Abb. 19)



SCHNITTFÜHRUNG BEI DER KATHETER-IMPLANTATION

Abb. 19

Aa. Stauung des Blutes an der Zitzenbasis mit ESMARCH-Schläuchen, Eröffnung der Striche medial mit einem 3 cm langen Längsschnitt bis zur Zitzenschleimhaut (Tunica mucosa) und Anlegen von etwa 0, 5 cm tiefen Taschen beiderseits der Schnittlinien.
Um zu vermeiden, daß dabei Blut in die Drüsen-Zisterne gelangt, ist darauf zu achten, daß die Schleimhäute nicht perforiert werden (vgl. Abb. 20).

ERÖFFNUNG DER ZITZE BIS ZUR TUNICA MUCOSA

Abb. 20

Ab. Präparation einer etwa 5 cm langen und 3 cm breiten Tasche in der Subcutis des Sulcus intermammaricus für die Aufnahme des Kollektors. Das Vorhandensein größerer Blutgefäße erfordert bei der Schnittführung große Sorgfalt.

Ac. 2 cm langer Hautschnitt etwa 5 cm caudal der linken hinteren Zitzenbasis. Hier wird später beim Verlegen des Zentralkatheters das Einführungsinstrument gewendet.

Ad. Anlegen einer etwa 5 cm langen und 3 cm breiten Tasche für die Implantation der Infektionsbarriere in der Plica subilica.

Ae. Eröffnung der Haut auf 2 cm Länge etwa 15 cm cranioventral der Kniefalte als Austrittsstelle für den Zentralkatheter.

B Implantation der Katheterteile

Zur Infektionsprophylaxe und um ein besseres Gleiten im Unterhautbindegewebe zu erreichen, werden die Katheter und Einführungsinstrumente mit Orbenin-Suspension bedeckt.

Ba. Zentralkatheter

Kopplung der distalen Enden vom Zentralkatheter mit einer Ligatur an das große Kathetereinführungsinstrument, das dann mit leichtem Druck unter Handkontrolle subcutan von der Tasche Ad aus bis zur Öffnung Ac vorgeschoben wird (vgl. Abb. 21).

Einziehen des Zentralkatheters, bis die Infektionsbarriere in der Kniefaltentasche zu liegen kommt. Danach Weiterführen des Zentralkatheters von der Öffnung Ac bis zur Tasche Ab und dessen Anpassen auf die durch die individuellen anatomischen Verhältnisse des Tieres erforderliche Länge.

In einem zweiten Arbeitsgang wird das proximale Katheterende von der Kniefalte Ad durch die Austrittsöffnung Ac geführt.

IMPLANTATION DES ZENTRALKATHETERS

Abb. 21

Bb. Infektionsbarriere

Kontrolle ihrer Lage in der Kniefalten-Tasche, wobei besonders darauf zu achten ist, daß der Zentralkatheter in diesem Bereich nicht abgeknickt ist.

Bc. Kollektor

Kopplung des distalen Endes vom Zentralkatheter an die Olive des Kollektors mit einer Ligatur und Einbringen des Kollektors in die Tasche Ab.

Bd. Sinuskatheter

Entfernen der ESMARCH-Schläuche von der Zitzenbasis, Einziehen der Sinuskatheter mit dem kleinen Einführungsinstrument von der Tasche Ab zu den Strichöffnungen Aa und dessen Anpassen auf die durch die individuellen anatomischen Verhältnisse des Tieres erforderliche Länge (vgl.Abb. 22).

IMPLANTATION DES SINUSKATHETERS

Abb. 22

Be. Tubus

Verbinden der Tubi mit den Sinuskathetern durch Einschrauben der vor der Operation an die Tubi gekoppelten Konnektive in die Sinuskatheter.

Spülen des gesamten Kathetersystems mit physiologischer Kochsalzlösung über den Zentralkatheter, um die Durchgängigkeit zu prüfen. Stumpfes Durchtrennen der Strichschleimhäute und Einbringen der Tubi in die Sinus.

C Wundverschluß

Verteilen von 4 Tuben Orbenin zur Keimhemmung im Implantatlager der Infektionsbarriere und von weiteren 2 Tuben in der Peripherie des Kollektors. Verschließen der Operationswunden nach Auftragen von MDP-Puder.

Mit Ausnahme der Austrittsöffnung Aa des Zentralkatheters werden alle Wunden mit fortlaufenden Matratzennähten nach GÖTZE et al. (1956) unter Verwendung von Filovet (stark und mittel) verschlossen.

D Postoperatives Entleeren der Milchdrüse

Applikation von 2 ml Oxytocin i. v. und Entleeren der Milchdrüse über das Kathetersystem mit einer Perfusionspumpe. Intrazisternale Versorgung der Drüsenviertel mit je 20 ml Tardomyocel-L-Suspension oder 15 ml Aureomycin-Suspension 2,5 %ig.

E Verschluß des Ductus papillaris

Entfernen des Strichkanals mit einem Kerbschnitt (vgl. Abb. 23). Auftragen von MDP-Puder und Vereinigen der Wundränder durch eine fortlaufende Matratzennaht mit Filovet fein. Besprühen aller Wunden mit Leucomycin-Spray 1 %ig und Aufrichten des Tieres.

ENTFERNEN DES DUCTUS PAPILLARIS MIT EINEM KERBSCHNITT

Abb. 23

4.2.4 Entfernen der Wundnähte

Neun Tage nach der Operation werden am sedierten (2 ml Rompun i. m.), stehenden Tier die Wundfäden gezogen.

4.3 Technik des Milchentzuges

Die Versuchstiere wurden zweimal täglich zu den normalen Melkzeiten gemolken. Nach dem Anrüsten mit einem warmen, feuchten Tuch erfolgte der Milchentzug bei einem Vakuum von - 0,02 kp/cm^2 (Kilopond pro Quadratzentimeter). Dieses niedrige Vakuum wurde gewählt, um eine Reizung der Zitzenschleimhäute durch Ansaugen zu vermeiden.

4.3.1 Entzug in sterilisierte Metalleimer

Hierfür wurden handelsübliche Melkeimer mit sterilisierbaren, durchsichtigen Plastikdeckeln ausgestattet. Diese hatten zwei mit Absperrhähnen versehene Abgangsstutzen für die Milch- und Vakuumschläuche, bzw. für die Vorrichtung zur Probenahme in Reagenzgläser (vgl. 4.4.). Vor dem Milchentzug wurden die Eimer bei geschlossenen Deckeln zwei Stunden im Dampftopf sterilisiert. Für jedes Tier stand eine Melkeinheit zur Verfügung.

Nach dem Öffnen der Desinfektionsschleuse (vgl. 3.1.2.7) und Ablassen der 5 %igen Formaldehydlösung wird der Milchschlauch des Metalleimers an den Zentralkatheter des Versuchstieres und der Vakuumschlauch an den hierfür vorgesehenen Deckelstutzen angeschlossen.
Daraufhin werden zuerst der Vakuum- und dann der Milchhahn geöffnet. Das Vakuum saugt die Milch an und läßt sie in den Eimer fließen. Nach Beendigung des Milchflusses werden die Absperrhähne wieder verschlossen (vgl. Abb. 25).

4.3.2 Entzug in sterile Plastikfolienbehälter

Diese Form des Milchentzuges gewährleistete, daß die Milch beim Melken weder bakteriell kontaminiert, mechanisch beansprucht noch durch Luftzutritt chemisch verändert wurde.

Die Milch gelangte von der Drüse direkt in sterile Plastikbehälter aus Polyäthylenfolie. Diese haben eine Abmessung von 60 x 35 cm und ein Fassungsvermögen von ca. 15 Litern. An einer Ecke ist ein 1 m langer Milchschlauch (Polyäthylen 8 x 10 mm) eingeschweißt, dessen Öffnung thermisch verschlossen ist..

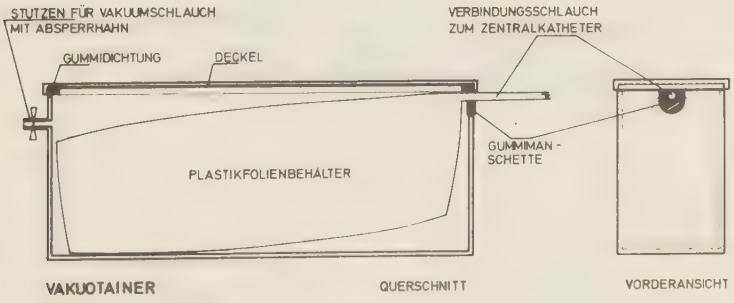
Ihre Sterilisation erfolgte durch Begasung mit Äthylenoxyd.

Bei Beginn des Milchentzuges wird ein kollabierter Plastikfolienbehälter in einen Vakuotainer (Metallkasten 65 x 15 x 30 cm) mit einem luftdicht abschließenden Deckel gelegt. Zwischen Deckel und Kasten befindet sich an der Schmalseite eine Durchtrittsöffnung für den Milchschlauch des Plastikbehälters. Eine Gummimanschette sorgt für den Luftabschluß zwischen Vakuotainer und Schlauch. An der gegenüberliegenden Wand des Vakuotainers ist ein Stutzen mit Absperrhahn für den Vakuumschlauch angebracht (vgl. Abb. 24).

Nach Abschneiden des verschweißten Endes des Milchschlauches wird dieser an den Zentralkatheter gekoppelt.

Der Milchfluß setzt beim Öffnen des Vakuumhahnes ein, da der im Vakuotainer entstehende Unterdruck auf den Plastikfolienbehälter übertragen wird.

Nach dem Milchentzug wird der Plastikfolienbehälter thermisch verschlossen.



MILCHENTZUG IN STERILE PLASTIKFOLIENBEHÄLTER

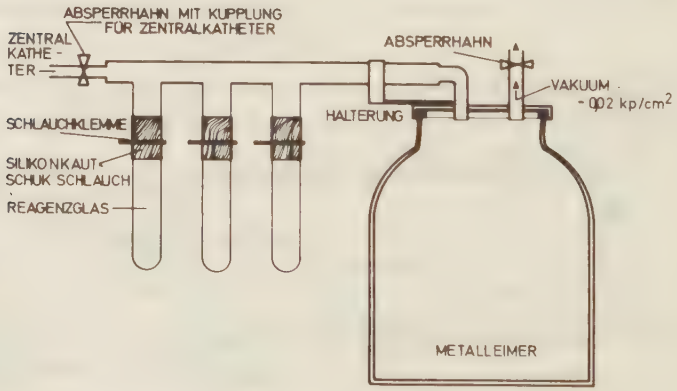
Abb. 24

4.4 Technik der Probenahme

Probenahme in Reagenzgläser

20 ml-Reagenzgläser wurden mit dünnwandigen Silikonkautschukschläuchen an ein mit einem Melkeimer (vgl. 4.3.1) verbundenes Edelstahlrohr mit drei Abgängen gekoppelt.
Das Lumen der Schläuche war durch Schlauchklemmen verschlossen. Das freie Ende des Metallrohres und der Vakuumstutzen des Melkeimers waren durch Hähne abgesperrt (vgl. Abb. 25).
Vor dem Milchentzug wurde dieses geschlossene System zwei Stunden im Dampftopf sterilisiert.

Nach Öffnen der Desinfektionsschleuse wird der Zentralkatheter des Versuchstieres an das Edelstahlrohr gekoppelt. Dann werden die Absperrhähne geöffnet. Die Milch fließt über das Rohr in den Melkeimer. Durch kurzfristiges Lösen der Schlauchklemmen wird die Milch in die Reagenzgläser geleitet.



MILCHENTZUG IN STERILISIERTE METALLEIMER
UND PROBENAHME IN REAGENZGLÄSER

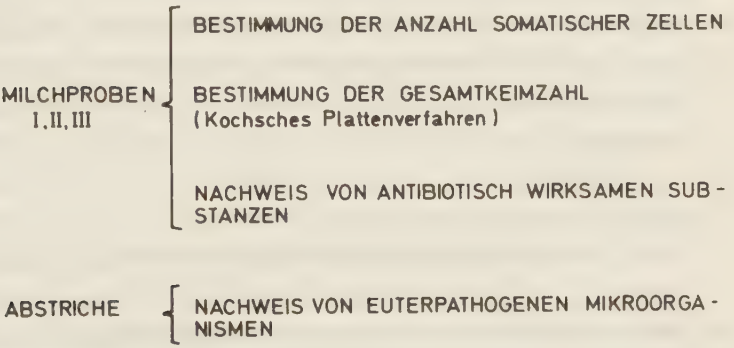
Abb. 25

4.5 Laboratoriumsuntersuchungen

Während der Morgenmelkzeiten wurden von jedem Versuchstier drei sterile Milchproben zu je 20 ml vom Anfangsgemelk entnommen (vgl. 4.4).

Jede Probe wurde auf Anzahl somatischer Zellen, Gesamtkeimzahl, antibiotisch wirksame Substanzen und euterpathogene Mikroorganismen untersucht.

Nach der Schlachtung der Tiere wurden Abstriche von der Infektionsbarriere kulturell-bakteriologisch untersucht. Das nachstehende Schema veranschaulicht den Gang der Laboratoriumsuntersuchungen.



GANG DER LABORATORIUMSUNTERSUCHUNG

4.5.1 Elektronische Bestimmung der Anzahl somatischer Zellen

Unter dem Sammelbegriff Zellen versteht man: Leukozyten, Epithelzellen und Bindegewebszellen. Eine Erhöhung des Zellgehaltes in der Milch ist unter Berücksichtigung der physiologischen Schwankungen als eindeutiges Symptom für das Vorliegen einer Mastitis oder Sekretionsstörung anzusehen. Damit ist die Zellzahl ein sicherer Gradmesser für den Reizzustand der Milchdrüse.

Die quantitative Bestimmung des Zellgehaltes wurde nach dem von TOLLE et al. (1966) und ZEIDLER et al. (1968) beschriebenen Verfahren elektronisch mit dem Coulter-Counter durchgeführt.

Fixation im Labor:
10 ml der gleichmäßig durchmischten Milchproben wurden in Röhrchen abgefüllt, die mit 0,2 ml einer Stabilisierungsflüssigkeit (siehe Anhang) beschickt waren: Die Stabilisierungsflüssigkeit wirkt 24 - 28 Stunden bei Zimmertemperatur auf die Proben ein.

Auflösung der Fettkügelchen:
Nach gründlicher Durchmischung der stabilisierten Milchproben wurde eine Verdünnung 1 : 100 mit einem Emulgatorgemisch (siehe Anhang) hergestellt.
Die so vorbereiteten Proben wurden anschließend für 10 Minuten bei 80 °C (± 0,5 °C) im Wasserbad inkubiert. Durch diese Behandlung wurden die Proben bis auf einen opaleszierenden Schimmer wasserklar, so daß nur noch somatische Zellen als Partikel ihres Größenbereiches in Suspension vorlagen.

Elektronische Auszählung:
Diese erfolgte mit dem elektronischen Partikelzähler Coulter-Counter, Modell A

Kapillardurchmesser:	100 µ
Meßvolumen:	0,1 ml

Meßstrom und Verstärker waren so eingestellt, daß bei ungestörter Basislinie die Impulse etwa 1/2 bis 2/3 des Oszillographenschirmes einnahmen. Die Festlegung des optimalen Schwellenwertes erfolgte durch Bestimmung des Zählplateaus. Für eine Zählung benötigt das Gerät bei einem Meßvolumen von 0,1 ml 2 - 3 Sek. Die Zellzahl kann in 1 000 direkt abgelesen werden.

4.5.2 Bestimmung der Gesamtkeimzahl

KOCH'sches Plattenverfahren auf Plate-Count-Agar nach der Empfehlung der INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1968)

Bei diesem Verfahren werden alle Keime erfaßt, die auf dem "Internationalen Standard-Vergleichsmedium" (siehe Anhang) innerhalb von 72 Stunden bei 30°C makroskopisch erkennbare Kolonien bilden.

Das Nährmedium wird 15 Minuten bei 120°C autoklaviert. Anschließend erfolgt die Zugabe von 10 ml steriler Magermilch/Liter Nährmedium.

Da für diese Arbeit lediglich Gesamtkeimzahlen bis 100 Keime/ml Milch relevant waren, wurden die Milchproben unverdünnt und in der Verdünnungsstufe 10^{-1} nach gründlicher Durchmischung in sterile Petrischalen pipettiert. Mit einer sterilen automatischen Spritze wurden 10 ml des bei einer Temperatur von 47°C im Wasserbad gehaltenen Nährmediums in diese Petrischalen verbracht und unter Kreisbewegung mit der Milchverdünnung sorgfältig gemischt. Zum Erstarren blieben die Platten 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Nach der o. a. Inkubation wurden diejenigen Platten ausgezählt, auf denen zwischen 0 und 100 Kolonien makroskopisch erkennbar waren.

Für die Auswertung wurde von den Keimzahlen der drei Parallelproben der arithmetische Mittelwert gebildet. Waren von den drei angesetzten Proben zwei keimfrei und eine keimhaltig - oder umgekehrt - entschieden die beiden gleichartigen Proben über die Zuordnung.

Um die Sicherheit der Keimzahlbestimmung zu prüfen, wurde in einem Leerversuch anstelle von Milch 1 ml sterile physiologische Kochsalzlösung nach dem Plate-Count-Verfahren untersucht. Dabei wiesen 6 % der Platten einen Befund von einem Keim auf. Diese Kontamination ist vermutlich auf Luftkeime zurückzuführen.

4.5.3 Nachweis von antibiotisch wirksamen Substanzen

Um eine Beeinflussung der Gesamtkeimzahl durch antibiotisch wirksame Substanzen sicher ausschließen zu können, werden die Milchproben täglich auf Hemmstoffe mit Hilfe des von KRAACK und TOLLE (1969) entwickelten Brillantschwarz-Reduktionstestes untersucht. In der Milch vorhandene Hemmstoffe, insbesondere Antibiotika, diffundieren in eine Agarschicht, die Bac. stearothermophilus var. calidolactis-Stamm C 953 sowie den Indikator Brillantschwarz enthält. Bei der anschließenden Inkubation bewirken die Hemmstoffe eine Wachstumshemmung des Testkeimes: Der Redoxindikator Brillantschwarz behält seine blaue Farbe. Die Umsetzung des Indikators in seine gelbe Reduktionsstufe zeigt hemmstoffnegative Proben an. Der Test wird wie folgt durchgeführt:

1. Präparation der Testtabletts durch Vermischung von Diffusionsagar, Testkultur und Indikator und Abfüllen von 0,1 ml des Reaktionsgemisches in die Kavitäten des Testtabletts.

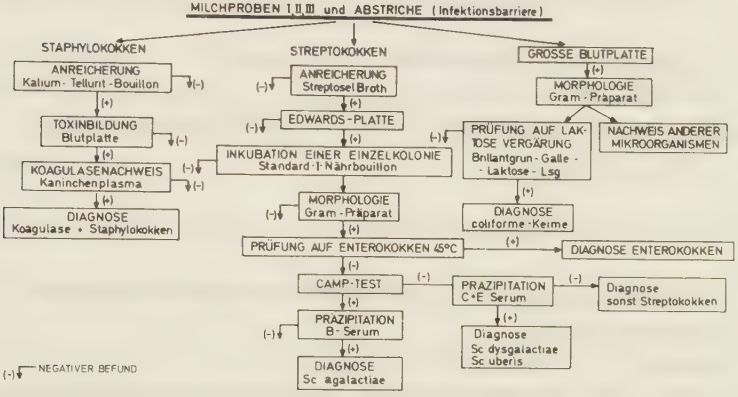
2. Beschicken der Testtabletts durch Überschichten jedes Reaktionssystems mit 0,1 ml der zu prüfenden Milch.
   Als positive Kontrolle dient ein Penicillin-Standard mit 0,008 IE/ml, als negative Kontrolle eine hemmstoffreie Milch.

3. Durchführung der Hemmstoff-Diffusion durch Kühlstellen der mit Milch beschickten Platten bei 2° - 4° C/1 Stunde und anschließendes Entleeren durch Umdrehen des Testtabletts.

4. Inkubation des Reaktionssystems im Brutschrank bei gesättigter Wasserdampfatmosphäre und 68° - 70°C/2 Stunden.
   Beurteilung der Reaktion an der Plattenunterseite (alle blau gefärbten Reaktionssysteme mit mindestens der Farbintensität des Penicillin-Standards sind als positiv zu bewerten, sofern die gleichzeitig angesetzten positiven und negativen Kontrollen einwandfrei reagiert haben.

4.5.4 Nachweis von Mastitiserregern

Die einzelnen Untersuchungsgänge der bakteriologischen Differenzierung sind im nachstehenden Flußdiagramm zusammengefaßt.



UNTERSUCHUNGSGANG ZUM NACHWEIS EUTERPATHOGENER MIKROORGANISMEN

Abb. 26

4.5.4.1 Streptokokken

Die bakteriologische Differenzierung von Streptokokken wurde nach folgendem Schema durchgeführt:

1. Anreicherung durch Beimpfung von 5 ml Streptosel-Broth (siehe Anhang) mit 0,25 ml Milch aus der Probe und gründliche Durchmischung mit dem Mixomaten.

2. Inkubation bei 37 °C/ 20 - 22 Stunden. Streptokokken vergären die in der Streptosel-Broth enthaltene Glukose zu Milchsäure. Die damit verbundene pH-Verschiebung wird durch einen Farbumschlag des vorher violetten Indikators Bromkresolpurpur nach gelb angezeigt. Der Umschlagbereich des Indikators liegt zwischen pH 6,8 und 5,2.

3. Überimpfung der umgeschlagenen Proben auf EDWARDS-Platten (siehe Anhang).

4. Inkubation der Platten bei 37°C/ 20 Stunden.

5. Fraktioniertes Ausstreichen einer Einzelkolonie auf Blutplatte (s. Anhang).

6. Inkubation der Platten bei 37°C/ 18 - 20 Stunden.

7. Isolieren einer Einzelkolonie durch Überimpfen in Standard-I-Nährbouillon (siehe Anhang).

8. Inkubation bei 37°C/ 18 - 20 Stunden.

9. Morphologische Untersuchung des Stammes durch Anfertigung eines GRAM-Präparates.

10. Untersuchung auf Enterokokken durch Beimpfung einer zweiten Standard-I -Nährbouillon (vgl. Anhang) und Inkubation bei 45°C/ 16 - 18 Stunden.

11. Ansetzen des CAMP-Testes: Ein ß- toxinbildender Staphylokokkenstamm wird diagonal auf einer Blutplatte ausgestrichen und der zu untersuchende Streptokokkenstamm im rechten Winkel dazu bis auf ca. 2 - 3 mm herangezogen. Nach Inkubation bei 37°C/ 18 - 24 Stunden ist eine positive Reaktion an der Bildung einer schalen- oder halbmondförmigen, totalen Hämolysezone im Kreuzungspunkt der Staphylolysinzone mit dem Streptokokkenstamm zu erkennen.

12. Präzipitation der CAMP-positiven Stämme mit Gruppe-B-Serum (Borroughs -Welcome) unter Verwendung des Antigenextraktes nach RANTZ und RANDALL (HAHN et al. 1970) zur Erfassung des Sc. agalactiae.

13. Präzipitation aller CAMP- und 45°C-negativen Streptokokken mit Gruppe-C- und E-Serum zur Erfassung der euterpathogenen Sc. dysgalactiae und uberis. Negative Befunde der Präzipitation wurden als "sonstige Streptokokken" gewertet.

4.5.4.2 Staphylokokken

Der Nachweis von Staphylokokken wurde wie folgt durchgeführt:

1. Beimpfung von 5 ml des Selektivmediums (siehe Anhang) mit 0,1 ml Milch aus der Probe und gründliche Durchmischung mit dem Mixomaten.

2. Inkubation bei 37°C/ 20 - 22 Stunden. Koagulasepositive Staphylokokken reduzieren Kaliumtellurit. Ihr Wachstum in der zuvor bernsteinfarbenen Bouillon ist an der Schwarzfärbung durch ausgefallenes metallisches Tellur zu erkennen.

3. Überimpfung der positiven Proben auf Blutplatten (siehe Anhang).

4. Inkubation bei 37°C/ 2 Stunden und Ablesen der Toxinbildung.

5. Koagulasenachweis durch Überimpfung einer Kolonie in Kaninchenplasma und Bebrütung bei 37°C/ 2 Stunden. Koagulasepositive Staphylokokken werden durch Koagulieren des Plasmas angezeigt.

4.5.4.3 Coliforme Keime

Ihr Nachweis wurde wie folgt geführt:

1. Beimpfung großer Blutplatten (siehe Anhang) mit 1 ml Milch aus der Probe.

2. Inkubation der Platten bei 37°C/ 48 Stunden.

3. Morphologische Untersuchung der Keime durch Anfertigung eines GRAM -Präparates.

4. Überimpfen einer Kolonie in 10 ml Brillantgrün-Galle-Laktose-Lösung (siehe Anhang).

5. Inkubation bei 30°C/ 72 Stunden.
   Coliforme Keime vergären Laktose unter Gasbildung, die durch DURHAM-Röhrchen angezeigt wird.

4.6 Datenerfassung und -auswertung

Alle Daten und Versuchsergebnisse wurden auf Protokollen festgehalten. Die verwendeten Vordrucke sind nachstehend abgebildet.

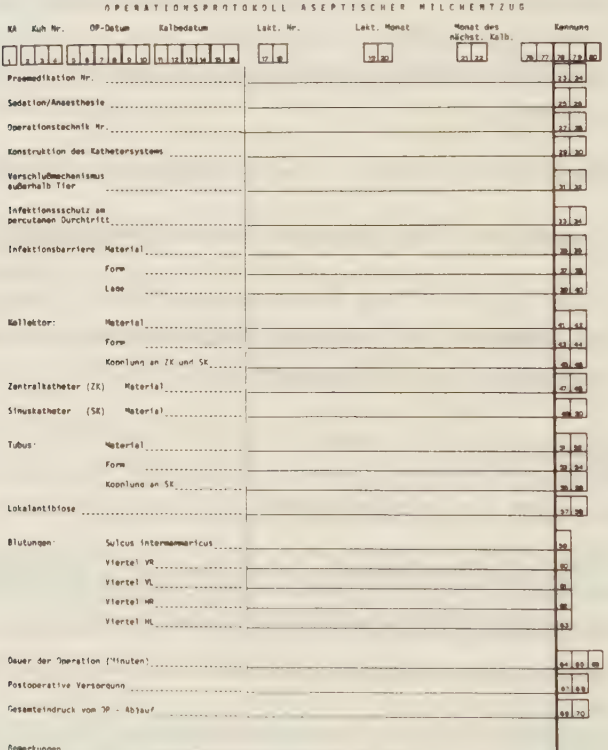


Abb. 27

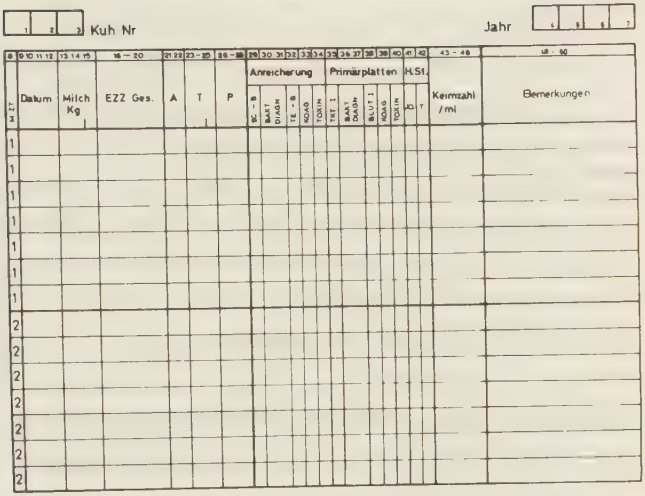

Kuh Nr
Jahr
Datum
Milch Kg
EZZ Ges.
A
T
P
Anreicherung
Primärplatten
K.St.
Keimzahl /ml
Bemerkungen

Abb. 28

5. ERGEBNISSE

5.1 Operationstechnische Vorversuche an sieben Versuchstieren

Um aus dem Angebot der für die Chirurgie geeigneten Kunststoffe diejenigen auszuwählen, die den besonderen mechanischen Beanspruchungen standhalten, wie sie durch den ständig wechselnden Füllungszustand und Verformungen der Milchdrüse beim Niederlegen, Aufstehen, Laufen und anderen Bewegungen der Tiere hervorgerufen werden, wurden an sieben Versuchstieren Test-Implantationen mit verschiedenen Kathetermaterialien durchgeführt. Durch diese Vorversuche sollten gleichzeitig die optimale Form und Dimensionierung der einzelnen Katheterteile ermittelt werden.

Postoperativer Verlauf unter Berücksichtigung der Katheterkonstruktion

Die Funktionsfähigkeit der implantierten Kathetersysteme konnte in den Vorversuchen durch Verbesserung der Konstruktion von vier Tagen (Kuh Nr. 1) auf 83 Tage (Kuh Nr.7) verlängert werden.

Die Abgangsursache für die Versuchstiere Nr. 1 - 5 lag in verschiedenen Mängeln in den Katheterkonstruktionen. Kuh Nr. 6 mußte nach 36 Tagen wegen Fraktur des Os pelvis und Kuh Nr. 7 nach 83 Tagen p. impl. wegen akuter Mastitis geschlachtet werden.

Von den Tubuskonstruktionen hat sich am besten der aus Silikonkautschukgrundpaste gespritzte "zylindrische Tubus" bewährt, der bei den Kühen Nr. 6 und 7 implantiert worden war. Er besaß die nötige mechanische Festigkeit und übte auf die Zitzenschleimhäute nahezu keinen Reiz aus.

Der bei Kuh Nr. 1 verwendete "zylindrische Tubus" aus Silastic (geklebt) riß bereits 4 Tage p. impl. an der Klebstelle. Das Nachfolgemodell "zylindrischer Tubus mit Ansatzstutzen im spitzen Winkel" führte bei Kuh Nr. 2 an zwei Stellen zu Fistelbildungen. Die Ursache dafür lag in der starren Verbindung zwischen Tubus und Sinuskatheter, die beim Niederlegen des Tieres einen Druck auf das sie umgebende Gewebe ausübte.

Der "kelchförmige Tubus" aus Polyäthylenvinylacetat, der bei Kuh Nr. 3 Anwendung fand, mußte ebenfalls aufgegeben werden, da das Material bereits sechs Tage nach der Operation in zwei Fällen irreversibel abknickte.

Das bei den Kühen Nr. 4 und 5 implantierte Modell "körbchenförmiger Tubus" aus Teflon übte auf die Strichschleimhäute einen sehr starken Reiz aus. Die Folge waren polypöse Proliferationen an den Strichschleimhäuten, die fünf Wochen p. impl. die Tubuslumina teilweise verschlossen und somit einen zügigen Milchfluß verhinderten.

Als optimale Sinuskatheterkonstruktion zeigte sich die bei den Kühen Nr. 5 - 7 eingesetzte Gefäßprothese aus Dacron. Sie führte auch unter extremen Bedingungen in keinem Falle zu Komplikationen, während die Sinuskatheter aus Silastic (Kuh Nr. 1 - 2) und Lupolen V (Kuh Nr. 3) nach kurzer Implantationsdauer rissen bzw. irreversibel abknickten.

Die Kollektor-Modelle aus Glas (Kuh Nr. 1 - 4) und Acrylglas (Kuh Nr. 5 - 7) haben beide ihre Funktionen voll erfüllt. Jedoch wurde dem aus Acrylglas gefertigten Kollektor infolge des geringeren Bruchrisikos der Vorzug gegeben.

Als zufriedenstellend erwiesen sich ebenfalls die Konstruktionen des Zentralkatheters aus Silastic und der Infektionsbarriere aus Polypropylen-Schwamm. Die Infektionsbarriere war außer bei zwei Versuchstieren immer allseitig bindegewebig durchwachsen und fest im Implantatlager fixiert. Bei den Kühen Nr. 2 und 7 umgab eine Abszeßkapsel die Infektionsbarriere.

Nachstehend sind die in den Vorversuchen ermittelten optimalen Materialien der einzelnen Katheterteile zusammengefaßt:

Teil des Kathetersystems	Material
Tubus	Silikonkautschukgrundpaste (gespritzt)
Sinuskatheter	Dacron (Gefäßprothese überschichtet mit Silastic)
Kollektor	Acrylglas
Zentralkatheter	Silastic
Infektionsbarriere	Polypropylen (Schwamm)

5.2 Versuche zur Gewinnung steriler Rohmilch an fünf Versuchstieren

Bei fünf Versuchstieren wurde die nach Material und Form in den Vorversuchen als optimal erwiesene Katheterkonstruktion implantiert. Die Milch dieser Tiere wurde unter aseptischen Kautelen gewonnen und täglich auf antibiotisch wirksame Substanzen, Gesamtkeimzahl, Differentialkeimbild und Anzahl somatischer Zellen untersucht. Die Milchmenge wurde zu jeder Melkzeit protokolliert.

Die Tiere schieden aus der quantitativen Wertung aus, wenn in ihrer Milch die Anzahl somatischer Zellen ein Niveau von mehr als 500 000 Zellen/ml erreicht hatte und die Gesamtkeimzahl auf über 100 Keime/ml Milch angestiegen war.

Postoperativer Verlauf des Versuches unter Berücksichtigung der Laboratoriumsuntersuchungen

Allgemeiner Gesundheitszustand

24 Stunden nach der Katheterimplantation war bei allen Versuchstieren wieder die normale Futteraufnahme zu verzeichnen, und die Werte für Atmung, Temperatur und Puls lagen innerhalb der physiologischen Normwerte.

Eine Beeinträchtigung des allgemeinen Gesundheitszustandes bei den Kühen Nr. 10 und 11 war bis zur Schlachtung nicht zu beobachten, bei den übrigen Tieren zeigte sich dagegen das Bild einer klinischen Mastitis: Gestörte Futteraufnahme, erhöhte Körpertemperatur und makroskopisch veränderte Milch. Eine Therapie lag nicht im Interesse des Versuches. Die Kühe wurden der Krankschlachtung zugeführt.

Milchentzug und Milchfluß

Der Milchentzug erfolgte nach sorgfältigem Anrüsten und dauerte je nach Milchmenge 3 - 5 Minuten. Das entspricht einem Milchfluß von etwa 2,5 - 3 kg/min.

Ein Nachgemelk, wie es beim konventionellen Milchentzug auftritt, war beim aseptischen Milchentzug nicht zu beobachten.

Milchleistung

Sie ist am 1. Tag p.impl. um etwa 12-42 % verringert, erreicht aber bereits nach etwa einer Woche wieder den Stand wie vor der Operation. Im ganzen blieb die tägliche Milchmenge bis zum Anstieg der Zellzahlen unverändert, in einigen Fällen zeigte sie sogar einen geringen Anstieg (vgl. Abb. 31, 33).

Anzahl somatischer Zellen

In den ersten Tagen nach der Katheterimplantation ist die Anzahl somatischer Zellen in der Milch regelmäßig stark erhöht. Sie variiert zwischen 0,5 und 5 Millionen/ml und liegt somit um ein Vielfaches über den vor der Operation ermittelten Werten. Nach kurzer Zeit fallen die Zellzahlen jedoch wieder ab und erreichen nach 4 - 14 Tagen ihr Ausgangsniveau. Lediglich am 8. - 9. Tag - nach Entfernen der Wundnähte - ist ein kurzfristiger Zellanstieg um etwa 100 000 - 200 000 Zellen/ml zu verzeichnen. Abgesehen von kleinen Schwankungen bleiben die Werte für 1 - 6 Wochen konstant. Sie liegen zwischen 100 000 und 200 000 Zellen/ml Milch. Nach dieser "Normalphase" erfolgt in der Regel ein plötzlicher Anstieg der Zellzahlen auf über 500 000 Zellen/ml Milch. Diese hohen Werte bleiben bis zur Schlachtung bestehen.

Antibiotisch wirksame Substanzen

Mit Ausnahme der Milch von Kuh Nr. 8, die erst am 25. Tag p. impl. eine negative Hemmstoffreaktion zeigt, ist die Milch aller anderen Tiere bereits am 5. Tag p.impl. frei von antibiotisch wirksamen Substanzen und bleibt es - außer bei Kuh Nr. 8, bei der der Hemmstofftest auch noch am 36. Tag p.impl. eine positive Reaktion zeigt - bis zum Ausscheiden der Tiere aus der quantitativen Wertung.

Gesamtkeimzahl

In der Milch aller Tiere werden 4 - 14 Tage, gerechnet ab Datum der ersten negativen Hemmstoffreaktion, keine Mikroorganismen nachgewiesen. Dieser kurzen "keimfreien Phase" folgte eine bis zu 3 Wochen dauernde "keimarme Phase" mit einer Gesamtkeimzahl von 1 - 100 Keimen/ml Milch. An diese

schließt sich die "keimreiche Phase" mit über 100 Keimen/ml Milch an. Bei den in der Milch nachgewiesenen Keimen handelte es sich um: Streptokokken, Corynebakterien, Mikrokokken und coliforme Keime (vgl. Tab. 2).

Insgesamt konnten von den fünf Versuchstieren 996, 6 Liter sterile Rohmilch gewonnen werden.

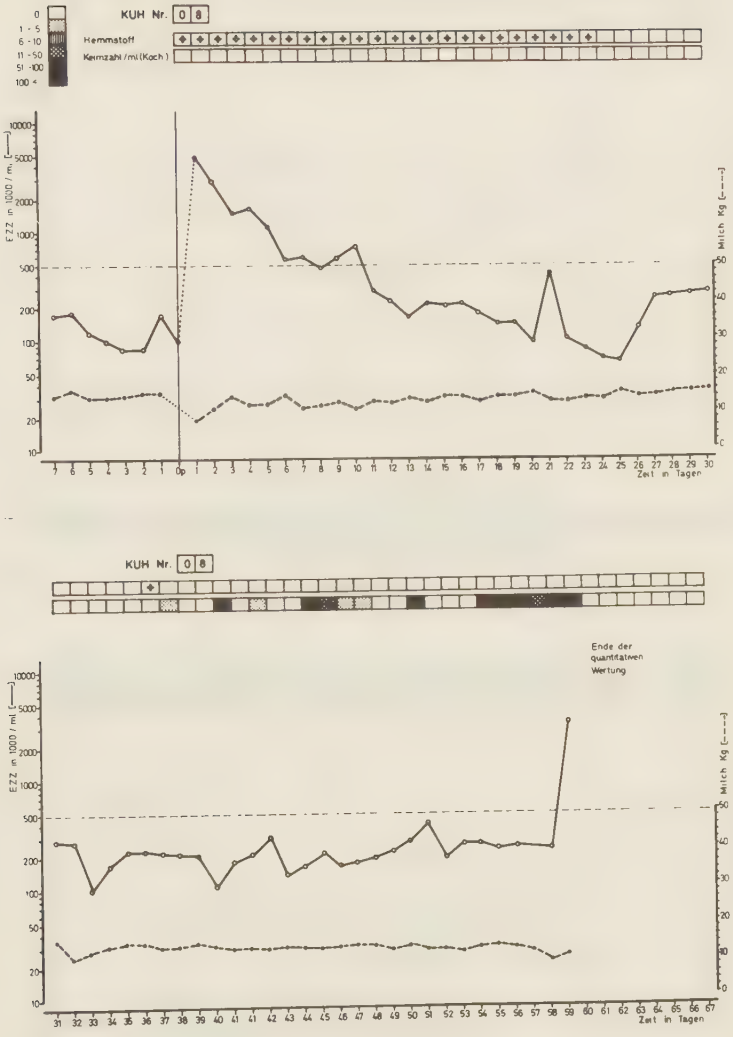
Mit Ausnahme von Kuh Nr. 8 schieden alle Tiere in der Zeit zwischen dem 15. und 24. Tag nach der Katheterimplantation wegen erhöhter Zellzahl und Gesamtkeimzahl aus der quantitativen Wertung aus.

Die Schlachtung der Tiere Nr. 10 und 11 erfolgte am 25. Tag p. impl. Die Kühe Nr. 8, 9 und 12 wurden nach dem Ausscheiden aus der Wertung noch über einen Zeitraum bis zu 59 Tagen gehalten (vgl. Tab. 2).

In den Abbildungen 29 - 33 sind die quantitativ-bakteriologischen und zytologischen Befunde sowie die täglichen Milchmengen und Ergebnisse des Hemmstofftestes von den einzelnen Versuchstieren graphisch dargestellt.

Positive Hemmstoffreaktionen in der Milch sind durch ein (+) markiert, während der Keimgehalt durch verschiedene Raster gekennzeichnet ist. Die Zellzahl und die Milchmenge sind durch Kurven dargestellt.

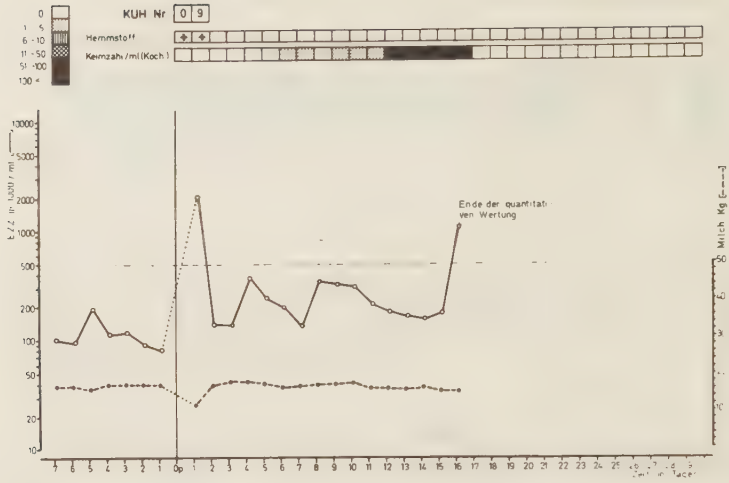
Die Angaben beziehen sich - abgesehen von der Milchmenge, die die Tagesleistung angibt - auf Untersuchungen der Morgenmelkzeiten (die Werte der Abendmelkzeiten zeigen keine wesentlichen Abweichungen).



VERSUCHSTIER NR. 8

MENGE UND HYGIENISCHE WERTIGKEIT DER GEWONNENEN MILCH IM ABLAUF DES VERSUCHES

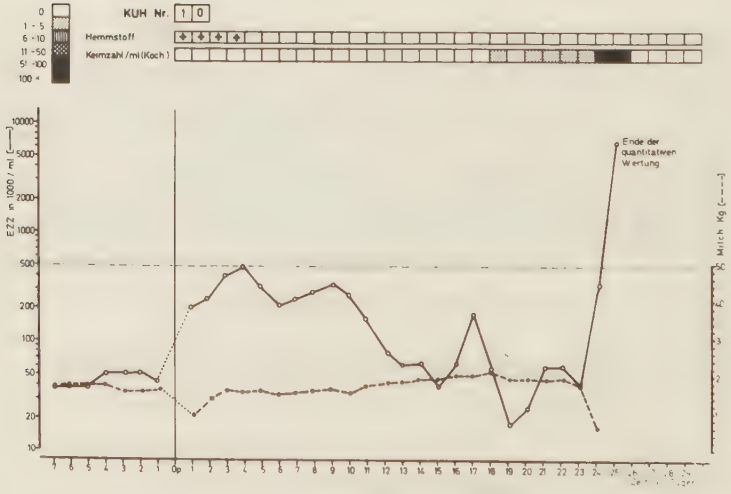
Abb. 29



VERSUCHSTIER NR. 9

MENGE UND HYGIENISCHE WERTIGKEIT DER GEWONNENEN MILCH IM ABLAUF DES VERSUCHES

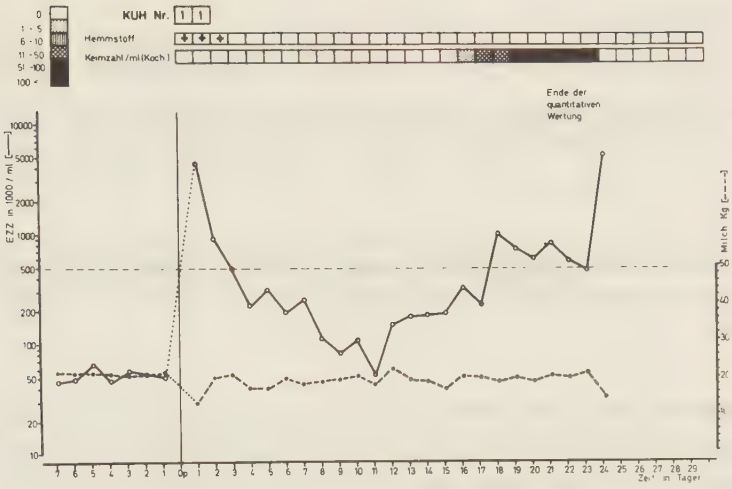
Abb. 30



VERSUCHSTIER NR. 10

MENGE UND HYGIENISCHE WERTIGKEIT DER GEWONNENEN MILCH IM ABLAUF DES VERSUCHES

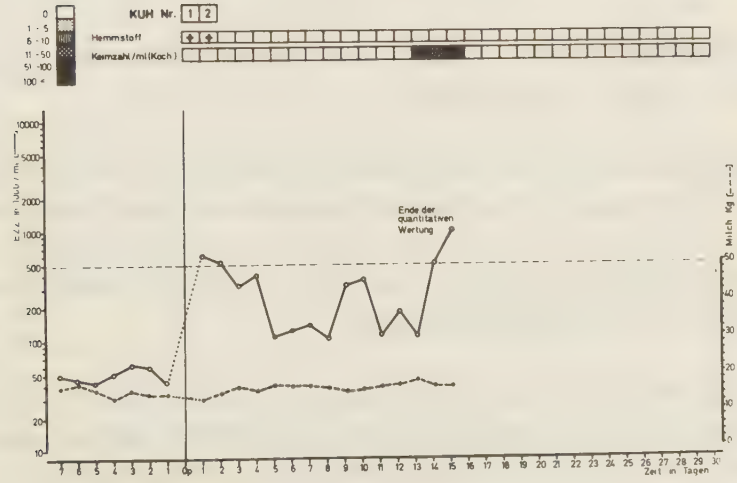
Abb. 31



VERSUCHSTIER NR. 11

MENGE UND HYGIENISCHE WERTIGKEIT DER GEWONNENEN MILCH IM ABLAUF DES VERSUCHES

Abb. 32



VERSUCHSTIER NR. 12

MENGE UND HYGIENISCHE WERTIGKEIT DER GEWONNENEN MILCH IM ABLAUF DES VERSUCHES

Abb. 33

Sektionsbefunde

Zwei Versuchstiere, die Kühe Nr. 10 und 11, wurden sofort nach ihrem Ausscheiden geschlachtet, die übrigen erst nach Auftreten klinischer Veränderungen des Gesundheitszustandes. Unmittelbar nach der Schlachtung erfolgte die Sektion der Milchdrüse.

Die Kathetersysteme waren bei allen Versuchstieren voll funktionsfähig und zeigten keine mechanischen Mängel. Ihre Oberflächen waren frei von Auflagerungen.

Bis auf die Tubi und die außerhalb des Tieres gelegenen Katheterteile war das gesamte Kathetersystem von einer 2 - 4 mm dicken Bindegewebsschicht umgeben, deren katheterseitige Oberfläche glatt, glänzend und geschlossen war.

Im Bereich der Konnektive und des Kollektors zeigte die Oberfläche stellenweise Rötungen.

Zwischen dem Bindegewebsmantel und der Katheteroberfläche befand sich ein feiner Flüssigkeitsfilm.

Bei den Kühen Nr. 10 und 11 war dieser Film klar und dünnflüssig, bei den anderen gelblich trüb und zähflüssig.

Die Infektionsbarrieren der Versuchstiere Nr. 10 und 12 waren allseitig bindegewebig durchwachsen. In den Poren des Polypropylen-Schwammes der Infektionsbarriere und in ihrer Peripherie waren Reste des Orbenin-Depots vorhanden. Bei den übrigen Tieren wurde die Infektionsbarriere von einer Abszeßkapsel mit gelblich-grünem eitrigem Inhalt umgeben.

In den Abstrichen von den Infektionsbarrieren der Kühe Nr. 10 und 11 konnten keine Mikroorganismen nachgewiesen werden, in den der drei anderen Tieren waren Streptokokken, Corynebakterien und Mikrokokken enthalten.

Der Übergang der Zentralkatheter in die äußere Haut erfolgte bei allen Versuchstieren ohne Zeichen einer Entzündung.

Die Zitzenschleimhäute wiesen in allen Fällen im Bereich der Tubi grießähnliche Proliferationen auf.

In der Tabelle 2 sind die in den vorangehenden Abschnitten aufgeführten Ergebnisse, nach Versuchstieren geordnet, zusammengefaßt.

KUH NR.		8	9	10	11	12
Nachweis von Hemmstoffen in der Milch	(Tage p. impl.)	24	2	4	3	2
Ende der quantitativen Wertung	(Tage p. impl.)	59	16	24	24	15
Schlachtung	(Tage p. impl.)	77	62	25	25	54
Dauer der keimfreien Phase	(Tage)	11	4	14	13	11
Dauer der keimarmen Phase	(Tage)	24	4	6	4	2
Nachgewiesene Mikroorganismen	in der Milch	Corynebakt.	Sc. sonstige	coliforme Keime	coliforme Keime	Mikrokokken
	in der Infektionsbarriere	Corynebakt.	Sc. sonstige	-	-	Mikrokokken

POSTOPERATIVER VERLAUF DES VERSUCHES UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER LABORATORIUMSUNTERSUCHUNGEN

Tab. 2

6. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, sterile Milch für experimentelle Zwecke in größerem Umfange zu gewinnen.

Um die gleichmäßige Versorgung von Laborexperimenten mit steriler Rohmilch bei vertretbarem Aufwand sicherzustellen, war es notwendig, bei dem von TOLLE und ZEIDLER (1969) beschriebenen Verfahren " Der kontinuierliche Milchentzug - ein experimentell-chirurgisches Verfahren zur Gewinnung steriler Rohmilch" das Risiko für das einzelne Versuchstier über einen gewissen Zeitraum zu beherrschen. Zu Beginn der vorliegenden Arbeit bestand dieses Risiko überwiegend in der mangelhaften Belastbarkeit der bis dahin verwendeten Materialien. Aus diesem Grunde wurden in den Vorversuchen an sieben Versuchstieren verschiedene bereits in der alloplastischen Chirurgie beim Menschen eingesetzte Kunststoffe auf ihre Eignung unter den besonderen Bedingungen dieses Verfahrens untersucht.

Als optimale Konstruktion des Kathetersystems ergab sich die Kombination von Silikonkautschuk (gespritzt) für den Tubus, armiertem Dacron (Gefäßprothese) für den Sinuskatheter, Acrylglas für den Kollektor, Silastic für den Zentralkatheter und Polypropylen für die Infektionsbarriere. Nach Verwendung dieser Katheterkonstruktion fiel kein Versuchstier wegen ungeeigneter Materialien aus. Diese Kunststoffe wurden im beobachteten Zeitraum (max. 12 Wochen) vom Organismus nahezu reaktionslos vertragen. Die bei der Sektion vereinzelt festgestellten leichten Rötungen des Implantatlagers lagen ausnahmslos an konstruktionsbedingten Kanten und sind somit auf mechanische Reizung zurückzuführen.

Durch Entwicklung eines speziellen Kathetereinführungsinstrumentes konnte die Implantation vereinfacht werden. Sie verlief durchweg komplikationslos, und alle Versuchstiere haben sie ohne länger anhaltende Beeinträchtigung des allgemeinen Gesundheitszustandes vertragen: Sie zeigten spätestens nach 24 Stunden wieder eine normale Futteraufnahme, und die Milchleistung erreichte innerhalb einer Woche den Stand wie vor der Operation bzw. lag bis zu 10% darüber.

Der Milchentzug über das Kathetersystem hatte demnach im beobachteten Zeitraum die Milchsynthese und den Entleerungsmechanismus nicht negativ beeinflußt.

Für die Laboratoriumsuntersuchungen konnten von fünf Versuchstieren ca. 1 000 Liter sterile Milch gewonnen werden.

Die Depressionen der Milchleistung im weiteren Versuchsablauf traten nur im Zusammenhang mit Mastitiden auf.

Die intrazisternale Infektionsprophylaxe wurde bei allen Tieren mit Ausnahme von Kuh Nr. 8 mit Aureomycin-Suspension 2,5 %ig durchgeführt. Kuh Nr. 8 erhielt Tardomyocel-L-Suspension. Während bei diesem Tier die Milch erst nach 24 Tagen p. impl. im Hemmstofftest negativ war, war dies bei den anderen Tieren bereits nach vier Tagen der Fall. Es empfiehlt sich daher, Präparate mit einer ähnlich langen Ausscheidungsdauer wie Tardomyocel-L-Suspension nicht anzuwenden, wenn beabsichtigt ist, möglichst bald nach der Operation sterile Milch für experimentelle Zwecke zu gewinnen.
Die positive Reaktion des Hemmstofftestes in einem Falle (Kuh Nr.8) ohne vorhergehende Antibiotikabehandlung ist möglicherweise durch ein kurzfristiges Auftreten sogenannter "originärer" Hemmstoffe, wie von BREITER und ORAN (1967) beschrieben wurde, zurückzuführen. Bei Verwendung von Kuheinzelgemelken für bakteriologische Untersuchung erscheint es daher auch aus diesem Grunde sinnvoll, regelmäßig einen Test zum Nachweis antibiotisch wirksamer Substanzen durchzuführen.

Der Gehalt der Milch an somatischen Zellen als empfindlicher Parameter für den Funktions- und Gesundheitszustand der Milchdrüse normalisierte sich nach einem Anstieg bis zu etwa 5 Millionen Zellen/ml Milch direkt nach der Operation im Verlauf von etwa einer Woche, d. h., nach Abklingen des operationsbedingten Reizzustandes führte das implantierte Kathetersystem zu keiner Irritation der Milchdrüse. Erst parallel zum Auftreten fakultativ euterpathogener Mikroorganismen in der Milch erfolgte ein erneuter steiler Anstieg der Zellzahlen, was auf ein Infektionsgeschehen schließen läßt.

Bei allen Versuchstieren wurden nach einer "keimfreien Phase" von maximal zwei Wochen Mikroorganismen in der Milch nachgewiesen. Die Primärinfektion nach der Operation ist wahrscheinlich intrakathetral erfolgt, d. h., die Erreger sind trotz Desinfektionsschleuse über das Zentralkatheterlumen in die Milchdrüse gelangt. Jedoch ist die Möglichkeit einer perikathetralen Infektion nicht völlig auszuschließen. Gegen diese Annahme sprechen jedoch die negativen bakteriologischen Befunde der Abstriche von den Infektionsbarrieren der Kühe Nr. 10 und 11, die gleich nach Auftreten von Mikroorganismen in der Milch geschlachtet wurden. Bei den zu einem späteren Zeitpunkt als infiziert festgestellten Infektionsbarrieren ist nicht gesichert, ob die Mikroorganismen von außen über den Zentralkatheteraustritt durch die äußere Haut oder von der infizierten Drüse perikathetral die Barriere erreicht haben.

Bei der Bemühung um die Gewinnung primär steriler Milch ist die Frage von grundlegender Bedeutung, ob das gesunde, laktierende Euter überhaupt steril ist. Untersuchungen von HEIDRICH et al. (1964) geben gute Hinweise hierfür. Die Gewinnung steriler Milch nach dem hier beschriebenen Verfahren liefert jedoch keinen völlig schlüssigen Beweis für diese Primärsterilität, da es denkbar ist, daß durch die postoperative intrazisternale prophylaktische Applikation von Antibiotika eine mögliche "natürliche Keimflora" der Drüse, wie sie von RITTER (1931) angenommen wird, beseitigt wurde.

Die Frage kann erst dann hinreichend beantwortet werden, wenn exogene Infektionen mit größerer Sicherheit verhindert werden können.

7. ZUSAMMENFASSUNG

1. Arbeitshypothese

Die vorliegende Arbeit geht von der Hypothese aus, daß die Milch, in der Zitzenzisterne eines gesunden, laktierenden Euters steril ist und über ein implantiertes Kathetersystem in größerer Menge keimfrei gewonnen werden kann.

2. Versuchsanstellung

Bei fünf gesunden Kühen wurden Dauerkatheter in die Milchdrüsen implantiert, über die nach chirurgischem Verschluß des Ductus papillaris die Milch unter aseptischen Kautelen entzogen wurde. Die optimale Konstruktion der Katheter war in operationstechnischen Vorversuchen an sieben Tieren ermittelt worden. Das Kathetersystem besteht aus vier jeweils in den Sinus lactiferus eingelegten Tubi, die über Sinuskatheter und einem in den Sulcus intermammaricus implantierten Kollektor mit einem Zentralkatheter in Verbindung stehen, der subcutan bis zu einem Bereich unterhalb der Plica subilica führt und hier die Haut durchtritt.
Um eine peri- und intrakathetrale Infektion zu vermeiden, ist der Zentralkatheter im Bereich der Kniefalte von einer Infektionsbarriere umgeben. Außerhalb Tier ist er durch eine Desinfektionsschleuse als Schutz gegen intrakathetrale Infektionen verschlossen.

Die Milch der Versuchstiere wurde unter sterilen Kautelen gewonnen und täglich auf antibiotisch wirksame Substanzen, Gesamtkeimzahl, Keimspektrum und Anzahl somatischer Zellen untersucht. Die Milchmenge wurde zu jeder Melkzeit protokolliert.

3. Ergebnisse

Die Vorversuche ergaben als optimale Konstruktion des Kathetersystems die Kombination von Silikonkautschuk (gespritzt) für den Tubus, armiertem Dacron (Gefäßprothese) für den Sinuskatheter, Acrylglas für den Kollektor, Silastic für den Zentralkatheter und Polypropylen-Schwamm für die Infektionsbarriere. Diese Kunststoffe wurden im beobachteten Zeitraum (maximal 12 Wochen) vom Organismus nahezu reaktionslos vertragen.

Eine negative Beeinflussung der Milchsynthese und des Entleerungsmechanismus durch den Milchentzug über das Kathetersystem konnte nicht beobachtet werden.

Insgesamt wurden etwa 1 000 Liter sterile Rohmilch für experimentelle Zwecke gewonnen.
Bei allen Versuchstieren wurden nach einer keimfreien Phase von maximal zwei Wochen fakultativ euterpathogene Mikroorganismen in der Milch nachgewiesen, die wahrscheinlich trotz Desinfektionsbarriere über das Zentralkatheterlumen in die Milchdrüse gelangt waren.

Die Frage nach der Primärsterilität der Milchdrüse ist in dieser Arbeit nicht beantwortet, da die Beeinträchtigung einer von einigen Autoren angenommenen "normalen" Keimflora durch die postoperative intrazisternale antibiotische Prophylaxe nicht ausgeschlossen werden kann.
Unabhängig von dieser grundsätzlichen Frage haben die vorliegenden Untersuchungen gezeigt, daß es möglich ist, über ein implantiertes Kathetersystem aus der Milchdrüse des Rindes sterile Milch in größeren Mengen zu gewinnen.

8. SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS

1. ALEXANDER, P. and HORNING, E. S. (1959): Observations on the OPPENHEIMER Method of Inducing Tumours by Subcutaneous Implantation of Plastic Films Ciba Foundation Symp. Carciogenesis, S. 12

2. ALLISON, A. (1967): Lysosomes and Disease Sci. Amer. 217, 62

3. AUTIAN, J. (1967): Toxicologic Aspects of Implants J. Biomed. Mater. Res. 1, 433

4. BARRY, J. M. and ROWLAND, S. J. (1953): Variations in the Ionic and Lactose Concentrations of Milk Biochem. J. 54, 575

5. BEECH, J. A. and FORBES, D. (1965): Pathogens in the Streak Canal Vet. Rec. 77, 1085

6. BERGE, E. und WESTHUES, M. (1969): Tierärztliche Operationslehre Paul Parey Verlag, Berlin u. Hamburg

7. BLAINE, G. (1946): The Uses of Plastics in Surgercy Lancet 2, 525

8. BRALEY, S. A. (1963): Use of Silicones in Plastic Surgery Arch. Otolaryng 78, 669

9. BRALEY, S. A. (1964): The Medical Silicones Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs 10, 240

10. BROWN, J. B., FRYER, M. P. and OHLWILER, D. A. (1960): Study and Use of Synthetic Materials, such as Silicones and Teflon, as Subcutaneous Prostheses Plast. Reconstr. Surg. 26, 264

11. BROWN, D. E. (1968): Tissue Reaction to Plastic and Metal Implants Arch. Otolaryng 88, 283

12. CHOYCE, D. P. (1968): Implants and the Human Body Lancet 2, 499

13. CONTZEN, H. (1963): Die lokale Gewebereaktion auf implantierte Kunststoffe in Abhängigkeit von deren Form Langenbecks Arch. Klin. Chir. 304, 922

14. CONTZEN, H. (1965): Voraussetzungen, Möglichkeiten und Grenzen für den alloplastischen Gewebeersatz mit Kunststoffen Der Chirurg 12, 530

15. COWIE, A. T. (1961): The Hormonal Control of Milk Secretion in: KON, S. K. and COWIE, A. T. Milk: The mammary gland and its Secretion Vol. I Academic Press, N. Y. and London

16. CRAIG, D. J., TROST, J. G. and TALLEY, W. (1969): A Surgical Procedure for Implantation of a Chronic Indwelling Jugular Catheter in the Monkey Lab. Anim. Care 19, 237

17. CULLEN, G. A. (1969): Streptococcus uberis: a Review Vet. Bull. 3, (39) 115

18. DAVIDSON, J. (1961): Observation on the Pathogenic Staphylococci in a Dairy Herd During a Period of 6 Years Res. vet. Sci. 2 (1) 22

19. DAVIDSON, J. (1963): Experiment on Controlling Staphylococcal Mastitis Res. vet. Sci. 4 (1) 64

20. DAVILA, J. C., LAUTSCH, E. V. and PALMER, T. E. (1968): Some Physical Factors Affecting the Acceptance of Synthetic Materials as Tissue Implants Ann. NY Acad. Sci. 146, 138

21. DeBAKEY, M. E., COOLEY, D. A., CRAWFORD, E. S. and MORRIS, G. C. (1958): Clinical Application of a New Flexible Knitted Dacron Arterial Substitute Am. Surgeon. 24, 862

22. DOBBERSTEIN, J. und HOFFMANN, G. (1964): Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere, Band III S. Hirzel Verlag, Leipzig

23. DODD, F. H. and NEAVE, F. K. (1970): Mastitis Control N. I. R. D. Paper no. 3559

24. EDWARDS, W. S. (1957): Plastic Arterial Grafts Publ. by Charles C. Thomas Co., Springfield Illinois

25. ELY, F. and PETERSEN, W. E. (1941): Factors Involved in the Ejection of Milk J. Dairy Sci. 24, 211

26. FERGUSON, A. B. Jr., LAING, P. G. and HODGE, E. S. (1960): The Jonization of Metal Implants in Living Tissues J. Bone Joint Surg. (Amer.) 42, 77

27. FINSTERBUSCH, W. (1964): Erfahrungen mit der Kaltsterilisation durch gespanntes Äthylenoxyd bei einjähriger klinischer Anwendung Wiener klin. Wschr. 15, 255

38. FITZPATRICK, B. (1968a): A Comparative Study of Some Implant Materials I
Aust. Dent. J. 13, 362

39. FITZPATRICK, B. (1968b): A Comparative Study of Some Implant Materials II
Aust. Dent. J. 13, 422

40. FORBES, D. (1968a): The Passage of Staph. through the Bovine Teat Canal
J. Dairy Res. 35, 399

41. FORBES, D. (1968b): Ph. D. Thesis, Reading

42. FORBES, D. (1969): The Pathogenesis of Bovine Mastitis
Vet. Bull., Weybridge 39 (8) 529

43. FRIEDENBERG, Z. B. and LAWRENCE, R. (1959): Bone Growth in Polyvinyl Sponge
Surg. Gynec. Obstet. 109 (3) 291

44. FROST, H. J. and PHILLIPS, D. S. M. (1970): The Foremilk and Experimental Staphylococcal Mastitis
Vet. Rec. 86, 592

45. GÖTZE, R. (1931): Zur klinischen Diagnostik und Behandlung der Kokkenerkrankungen des Euters
B. Tierärztl. Wschr. 47, 649

46. GÖTZE, R., AEHNELT, E. und MERKT, H. (1956): Naht des Zitzenrisses und der Zitzenfistel beim Rind
Dt. Tierärztl. Wschr. 63, 2

47. GREEN, J. E. (1970): Teat Stripping to Control Mastitis
Dairyfmg. Dig. 17 (1) 4

48. GRUNERT, E. und WEIGT, V. (1964): Beitrag zur klebsiellen Mastitis beim Rind
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 72, 116

49. HAHN, G., HEESCHEN, W. und TOLLE, A. (1970): Streptococcus - eine Studie zur Struktur, Biochemie, Kultur und Klassifizierung
Kieler Milchw. Forsch. Ber. 22, 333

50. HARRISON, J. H. (1958a): Synthetic Materials as Vascular Prostheses
A Comparative Study in Small Vessels of Nylon, Dacron, Orlon, Ivalon Sponge and Teflon
Amer. J. Surg. 95, 3

51. HARRISON, J. H. (1958b): Synthetic Materials as Vascular Prostheses
A Comparative Study of Nylon, Dacron, Orlon, Ivalon Sponge and Teflon in Large Blood Vessels with Tensile Strength Studies
Amer. J. Surg. 95, 16

42. HARRISON, J. H. (1959): Synthetic Materials as Vascular Prostheses Long Term Studies on Grafts of Nylon, Dacron, Orlon, and Teflon Replacing Large Blood Vessels Surg. Gynec. Obstet. 108, 433

43. HAUKE, H., MÜLLER, G. und SCHÖNHERR, W. (1969): Betrachtungen zur Pathogenese der Euterentzündungen des Rindes Mh. Vet. Med. 24, 814

44. HEBERER, G. (1961): Indications and Results of Synthetic Substitution of the Aorta and its Large Branches Toraxchir. 9, 329

45. HEIDRICH, H. J. und RENK, W. (1963): Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg

46. HEIDRICH, H. J., GROSSKLAUS, D. und MÜLLING, M. (1964): Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an durch Handmelken und Venülenpunktion der Drüsenzisterne gewonnenen Milchen Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 4, 83

47. HENKEL, G. (1960): Über die "Korrosion" der Kunststoffe Deutsch. Stomat. 10 (11) 828

48. HOPKIRK, C. S. M. (1934): zit. nach FORBES 1969 Aust. vet. J. 10, 143

49. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1968): Definition of Mastitis München

50. IRMER, W. und SELING, A. (1966): Kunststoffe in der Chirurgie Zentralbl. f. Chirurgie 12, 401

51. JACOB, K. (1956): Zur Pathogenese der Pyogenesmastitis des Rindes Monh. f. Vet. med. 11, 703

52. JERGESEN, F. (1964): Metallic Surgical Implants Principles and Mechanical Factors J. Bone Surg. 46, 401

53. KÄSTLI, P. (1963): Die Ursache der Mastitis Tierärztl. Umschau 18, 527

54. KALAMBAHETI, K. (1965): Siliconized Foley Catheters Amer. J. Surg. 110, 935

55. KANDLER, O. (1964): Keimgehalt der Anlieferungsmilch und die Qualität der Molkereiprodukte Dtsch. Molkerei Ztg. 85, 352

56. KLASTRUP, O. (1969): Infektiöse und Berufsmastitis
Östr. Milchw. 24 (17) 313, (18) 344

57. KÖCHEL, F. (1966): Sterilisation mit Äthylenoxyd in Medizin und Pharmazie
Krankenhaus-Apotheke 2, 9

58. KORT, J. (1969): Fremdmaterialien in der Chirurgie
Med. Welt 32, 1723

59. KRAACK, J. und TOLLE, A. (1969): Brillantschwarz-Reduktionstest mit Bac. stearothermophilus var. calidolactis zum Nachweis von Hemmstoffen in der Milch
Milchwissenschaft 22, 669

60. KÜNTSCHER, G. (1964): Primäre Knochenheilung
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 308, 452

61. LEININGER, R. I., MIKROVITCH, V., PETERS, A. and HAWK, W. A. (1964): Change in Properties of Plastics During Implantation
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs 10, 320

62. LeVEEN, H. H. and BARBERIO, J. R. (1949): Tissue Reaction to Plastics used in Surgery with Special Reference to Teflon
Ann. of. Surg. 129, 74

63. LIPSHUTZ, H. (1966): A Clinical Evaluation of Subdermal and Subcutaneous Silicone Implants
Plast. Reconstr. Surg. 37 (3) 249

64. LITTLE, K. (1968): What's in PVC
Lancet 2, 351

65. McDONALD, J. S. (1968): Pathogenesis of Udder Infections
Proc. Symp. Machine Milking, Reading S. 83

66. McDONALD, J. S. (1969): Relationship of Hygiene, Milking Machine Function and Intramammary Therapy to Udder Disease
Amer. J. Vet. Med. Ass. 155, 903

67. McDONALD, J. S. (1970): Preventious of Intramammary Infections by Milking Time Hygiene
Amer. J. Vet. Res. 31, 241

68. MEARS, D. C. (1966): Electron-Probe Microanalysis of Tissue and Cells from Implant Areas
Surg. (Brit.) 48, 754

69. MORRIS, G. G., DeBAKEY, M. E., COOLEY, D. A. and CRAWFORD, E. S. (1959): Arterial Bypass Below the Knee
Surg., Gynec. v. Obst. 108, 321

70. MOWBRAY, A. Q. (1965): Standard Materials for Surgical Implants
Amer. J. Med. Electron Jul-Sept. 19

71. MURPHY, J. M. and STUART, O. M. (1953): The Effect of Introducing Small Numbers of Streptococcus agalactiae (Cornell 48 Strain) Directly into the Bovine Teat Cavity
Cornell Vet. 43, 290

72. NASSAL, J. (1957): Das Ergebnis planmäßiger Milchuntersuchungen bei Kühen mit positiver Tuberkuloseuntersuchung
Rindertbc. u. Brucellose 6, 55

73. NEAVE, F. K. (1971): The Control of Mastitis by Hygiene
The Control of Bovine Mastitis
N. I. R. D., Reading, England

74. NEAVE, F. K. and JACKSON, E. R. (1971): The Prevention of Intramammary Infection
The Control of Bovine Mastitis
N. I. R. D. Reading, England

75. NELSON, J. P. and IVINS, J. C. (1965): Nonmetallic Implants
Minnesota Med. 48, 1371

76. NEWBOULD, F. H. S. (1964): Factors Affecting Bacterial Invasion of the Bovin Udder via the Teat Duct.
Dairy Sci. Abstr. 26, 245

77. NOTHDURFT, H. (1955): Die experimentelle Erzeugung von Sarkomen bei Ratten und Mäusen durch Implantation von Rundscheiben aus Gold, Silber, Platin, oder Elfenbein
Naturwissenschaften 42, 75, 106

78. NYHAN, J. F. and PHILLIPS, D. S. M. (1968): Unveröffentlicht zit. nach FROST und PHILLIPS 1970

79. OETTEL, H. (1963): Biologische Probleme bei Kunststoffen
Langenbeck's Klin. Chir. 304, 900

80. OLSON, J. C. (1962): Hygienic Aspects of Milk and Payment for Quality
J. Milk Food Techn. 25, 355

81. OPPENHEIMER, B. S., OPPENHEIMER, E. T., STOUT, A. P. and DANISHEFSKY, I. (1953): Malignant Tumors Resulting from Imbedding Plastics in Rodents
Science 118, 308

82. OPPENHEIMER, B. S., OPPENHEIMER, E. T., DANISHEFSKY, I., STROUT, A. P. and EIRICH, F. R. (1955): Further Studies of Polymers as Carcinogenic Agents in Animals
Cancer Res. 15, 333

83. OPPENHEIMER, B. S. (1958): The Latent Period in Carcinogenesis by Plastics in Rats and its Relation to the Presarcomatous Stage
Cancer 11, 204

84. ORR, D. A. and TAYLOR, M. M. (1968): The Desinfection of Teat Skin
Br. vet. J. 124, 481

85. OTTO, E. (1950): Über den plastischen Verschluß von Schädeldefekten unter besonderer Berücksichtigung der Paladonprothese
Chirurg. 21, 488

86. PATTERSON, C. N. (1969): Siliconized Dacron Implants in Septal and Orbital Surgery
Arch. Otolaryng 89, 609

87. PETRY, G. (1961): On the Morphology of Newly Formed Blood Vessel Walls on the Foundation of Synthetic Vascular Prosthesis
Thoraxchir. 9, 352

88. PETTE, J. W. (1962): Milch und Milchprodukte
(6. Symposium Weihenstephan 1961)
Steinkopf Verlag, Darmstadt

89. PHILLIPS, D. S. M. (1968): Intramammärer Druckwechsel und Verteilung der Milch im Euter infolge unterschiedlich langer Perioden zwischen Anrüsten und Milche ntzug
Sonderdruck aus New Zealand J. of Agric. Res. 11, (1)

90. PHILLIPS, D. S. M., WHITEMAN, D. and WALKER, A. (1969): Teat Stripping Prevents Mastitis
Proc. Ruacura Fmrs. Conf.

91. POCHE, R. (1963): Über das Schicksal alloplastischer Teflonprothesen im Gefäßsystem
Langenbeck's Arch. Klin. Chir. 304, 972

92. RAU, H. (1963): Plastische Deckung deformierender Schädeldefekte
Langenbeck's Arch. Klin. Chir. 304, 926

93. REICHMUTH, J. (1970): Die diskriminanzanalytische Bestimmung des zytologischen Normalwertes der Milch mit Hilfe chemischer Kriterien
Vortrag anl. d. Tagung d. Dtsch. Ges. für Milchwissenschaft in Gießen

94. REITER, B. and ORAM, J. D. (1967): Bacterial Inhibitors in Milk and Other Biological Fluids
Nature 216, 328

95. RENK, W. (1957): Beiträge zur Diagnose und Pathogenese der absoluten Mastitiden
Zbl. Vet. Med. 4, 325

96. RITTER, J. (1931): Über die bakterielle Euterbesiedlung
Vet. Diss. Wien

97. ROBINSON, M. (1959): Silver Implant in Situ fifty-one Years after Resection of Mandible
J. A. M. A., 171, 890

98. ROOK, J. A. F. and WOOD, M. (1959): Potassium and Lactose in Milk in Relation to the Physiology of Milk Secretion
Nature 184, 647

99. ROWE, V. K., SPENCER, H. C. and BASS, S. L. (1948): Toxicological Studies on Certain Commercial Silicones and Hydrolyzable Silane Intermediate
J. Indust. Hyg. Toxicol. 30, 332

100. ROYDHOUSE, R. H. (1968): Implant Testing of Polymerizing Materials
J. Biomed. Mater. Res. 2, 265

101. SCALES, J. T. (1953): Tissue Reactions to Synthetic Materials
Proc. of the Roy Soc. of Med. 46, 647

102. SCHARPE, M. E., NEAVE, F. K. and REITER, B. (1962): The Staphylococci and Mikrococci
J. Appl. Bact. 25 (3) 403

103. SCHMIDT, D., FICHLER, H.-J. und SCHUH, D. (1967): Experimentelle Untersuchungen zur Verträglichkeit eines Transplantates aus Silikongumm
Zentralbl. f. Chirurgie 30, 2255

104. SEELEMANN, M. (1942/43): Zum "primären" Vorkommen des Strept. lactis und von Enterokokken in der Milchdrüse des Rindes sowie zur Bedeutung dieser Milchsäure Streptokokken bei Sekretionsstörungen und and ren Erkrankungen der Tiere und des Menschen
Zbl. Bakt. I. Orig. 149, 441

105. SPEIRS, A. C. and BLOCKSMA, R. (1963): New Implantable Silicone Rubbers An Experimental Evaluation of Tissue Response Plast. and Reconstr. Surg. 31, 166

106. STAEGEMANN, G. (1968): Alterungsveränderungen von hochpolymeren Kunststoffen und deren Bedeutung für die Medizin Deutsch. Stomat. 18, 248

107. STECK, W. (1921): Untersuchungen über die bakterielle Besiedlung normaler Kuheuter Vet. Diss. Bern

108. STINSON, N. E. (1965): Tissue Reaction Induced in Guinea-Pigs by Particulate Polymethylmethacrylate, Polythene and Nylon of the Same Size Range Brit. J. Exp. Path. 46, 135

109. SZILAGYI, D. E., PFEIFER, R. J. and DEHUSSO, F. J. (1964): Long Term Evaluation of Plastic Arterial Substitutes: An Experimental Study Ann. of Surg. 55, 165

110. SZILAGYI, D. E., SMITH, R. F., ELLIOTT, J. P. and HUBERT, M. A. (1965): Long Term Behavior of a Dacron Arterial Substitute: Clinical, Roentgenologic and Histologic Correlations Ann. of Surgery 162, 453

111. THOMAS, C. L. and THIEL, C. C. (1971): Machine Milking and the Control of Mastitis The Control of Bovine Mastitis N. I. R. D., Reading, England

112. TOLLE, A., ZEIDLER, H. und HEESCHEN, W. (1966): Ein Verfahren zur elektronischen Zählung von Milchzellen Milchwissenschaft 21, 93

113. TOLLE, A. und ZEIDLER, H. (1969): Der kontinuierliche Milchentzug - ein experimentell-chirurgisches Verfahren zur Gewinnung steriler Rohmilch Milchwiss. 24, 590

114. TOLLE, A., HEESCHEN, W., REICHMUTH, J. und ZEIDLER, H. (1970): Die chemische Zusammensetzung der Rohmilch in Abhängigkeit von der Anzahl somatischer Zellen Kongreßber. Weltmilchkongreß Sydney

115. VENABLE, C. S. and STUCK, W. G. (1943): A General Consideration of Metals for Buried Appliances in Surgery Internat. Abstr. Surg. 76, 297

116. WALLHÄUSSER, K. H. und SCHMIDT, H. (1967): Sterilisation, Desinfektion, Konservierung und Chemotherapie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

117. WALTER, J. B. and CHIARAMONTE, L. G. (1965): The Tissue Responses of the Rat to Implanted Ivalon, Etheron, and Polyfoam Plastic Sponges
The Brit. J. of Surg. 52, 49

118. WHITTLESTONE, W. G., BASSET, E. G. and TURNER, C. W. (1953): Factors Influencing the Amount of Milk "Let-Down Hormone" in the Posterior Lobe of Jersey Cattle
J. Dairy Sci. 35, 889

119. WILSON, C. D. and DAVIDSON, I. (1961): The Control of Staphylococcal Mastitis
Vet. Rec. 73, (13) 321

120. YOUNG, H. H. (1963): Use of a Hinged Vitallium Prosthesis for Arthroplasty of the Knee
A Preliminary Report
Bone Surg. 45, 1627

121. ZEIDLER, H., TOLLE, A. und HEESCHEN, W. (1968): Verbesserte Präparations- und Untersuchungstechnik zur elektronischen Bestimmung des Zellgehaltes in Milch
Milchwissenschaft 23, 564

122. ZIEGLER, H. und MOSIMANN, W. (1960): Anatomie und Physiologie der Rindermilchdrüse
Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg

9. ANHANG

ad 3.1.2.6 Orbenin (W. Z. Beecham)

Cloxacillin (1 Tube = 500 mg)

ad 4.1.2.1 Filovet (W. Z. Bengen)

Polyamidfaser

ad 4.2.1.3 Spitazid (W. Z. Henkel)

Zusammensetzung	in 100 ml
Methylglykolacetat	4 ml
Äthylalkohol	6 ml
Benzylalkohol	1 ml
Linalylacetat	1 ml
Äthanol	44 ml
Isopropanol	27 ml

ad 4.2.2.1 Supronal-Lösung (W. Z. Bayer)

Kombination von 4-Aminobenzolsulfothiocarbamid-Salz des 4-Aminomethylbenzolsulfonamids und 2-(4-Aminobenzolsulfonamido) -4 -methyl-pyrimidin

Tardomyocel comp. III (W. Z. Bayer)

Kombination von Dibenzylaethylendiamin-di-Penicillin G mit Dihydrostreptomycin-Sulfat

Bophysin (W. Z. W. D. T.)

Wirksame Bestandteile: Extraktum Veratri, Formaldehyd solutus

Rompun (W. Z. Bayer)

2-(2, 6-Xylidino)-5, 6-dihydro-4H-1, 3-thiazin-hydrochlorid

Tutocain 2 % (W. Z. Bayer)

Hydrochlorid des p-Aminobenzoyl-dimethylaminomethyl-butanol

Tardomyocel-L-Suspension (W. Z. Bayer)

Kombination von N, N'-Dibenzyläthylendiamin-di-Penicillin-G, Chloramphenicol und Sulfanilthiocarbamid-Salz des 4-Amino-methylbenzolsulfonamid

Aureomycin-Suspension 2, 5 %ig (W. Z. Lederle)

Ölige Suspension von Aureomycin und Tocopherol

MDP-Puder (W. Z. Bayer)

Gemisch aus: Marbadal (4-Aminobenzolsulfothiocarbamid-salz des 4-Aminomethylbenzolsulfonamids), Debenal-M (2-(4'-Amino-benzolsulfonamido) - 4 -Methylpgrimidin), Saccharum lactis und Procain-Penicillin G

Leukomycin-Spray 1 % (W. Z. Bayer)

Chloramphenicol (D-threo-1-(4'-Nitrophenyl)-2-dichloracetamido-1, 3-propandiol

ad 4. 5. 1 Stabilisierungsflüssigkeit

Zusammensetzung:

Formalin solutus (35 % Formalin) p. a.	10 ml
Eosin wasserlöslich	0,02 g
Aqua dest.	100 ml

Emulgatorgemisch

Zusammensetzung:

Physiol. NaCl (0,9 %ig)	84,5 Vol%
Äthanol 96 %ig	12,5 Vol%
Formaldehyd solutus 35 %ig p. a.	1,0 Vol%
Oktylphenoldekaäthylenglycoläther (Triton-X-100) pH 7,0	2,0 Vol%

ad 4. 5. 2 Plate-Count-Agar (Difko)

(Internationales Standard-Vergleichsmedium)

Zusammensetzung:	g/l
Trypton	5,0
Hefeextrakt	2,5
Glukose	1,0
Agar	15,0
Aqua des. ad pH 7,0	1000,0 ml

ad 4. 5. 4. 1 Streptosel-Broth (B. B. L.)

Zusammensetzung:	g/l
Tripticase	15,0
Phyton	5,0
NaCl	4,0
Na-Citrat	1,0

L-Cystin	0,2
Na-Sulfit	0,2
Glukose	5,0
Na-Azid	0,2
Kristallviolett	0,0002

pH 7,4

Zusatz: 20 ml Bromkresolpurpur-Lösung als Indikator (0,1 g Bromkresolpurpur + 18,5 ml n/100 Na OH, ad. 250 ml Aqua dest.) und 2 ml Kanamycin zur Hemmung der Mikrokokkenflora (Sarcinen)

EDWARDS-Platte (Oxoid)

Zusammensetzung:	g/l
Fleischextrakt	10,0
Fleisch Pepton	10,0
NaCl	5,0
Aeskulin	1,0
Kristallviolett	0,0013
Thalliumsulfat	0,33
Agar	15,0

pH 7,4

Zusatz: 6 % steriles, geschütteltes Hammelblut

Blutplatte (Merck)

(Standard-I-Nähragar)

Zusammensetzung:	g/l
Spezialpepton	15,6
Hefeextrakt	2,8
NaCl	5,6
D-Glukose	1,0
Agar	12,0

pH 7,4 - 7,6

Zusatz: 5 % steriles, geschütteltes Hammelblut

Standard-I-Nährbouillon (Merck)

Zusammensetzung:	g/l
Spezialpepton	15,6
Hefeextrakt	2,8
NaCl	5,6
D-Glukose	1,0

pH 7,4 - 7,6

ad 4. 5. 4. 2 Staphylokokken-Selektivnährboden (Merck)

Zusammensetzung:	g/l
Pepton aus Casein	10,0
Pepton aus Sojabohnenmehl	3,5
Hefeextrakt	6,5
D (-) Mannit	5,0
Glykokoll	10,0
Dikaliumhydrogenphosphat	5,0
Lithiumchlorid	5,0
Natrium pyruvat	10,0

Zusatz: Kaliumtellurit (20 ml, 1 %ig) als Indikator

ad 4. 5. 4. 3 Brillantgrün-Galle-Laktose-Lösung

Zusammensetzung:	g/l
Pepton	10,0
Laktose	10,0
Rindergalle (gereinigt)	20,0
Brillantgrün	0,0133

pH 7,4

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. A. Tolle für die Überlassung des Themas und die allzeit gewährte freundliche Anregung und Unterstützung meinen herzlichsten Dank sagen.

Lebenslauf

Am 29.7.1940 wurde ich, Hans-Harald Großberger, als Sohn des Diplomingenieurs Harald Großberger und seiner Ehefrau Herta, geb. Linau, in Königsberg/Pr. geboren.

Nach der russischen Gefangenschaft vom Januar 1945 bis März 1946 zogen meine Mutter und ich - mein Vater ist vermißt - nach Wedel/Holstein. Dort besuchte ich vom September 1947 bis September 1951 die Grundschule und danach für ein Jahr die Mittelschule.

Ostern 1952 trat ich in das Ludwig-Meyn-Gymnasium zu Uetersen/Holstein ein, das ich Weihnachten 1958 verließ, um in Hamburg den Beruf des Blechschlossers zu erlernen. Nach 2 1/2 Jahren beendete ich die Lehre mit der Facharbeiterprüfung.

Anschließend besuchte ich die Lauenburgische Gelehrten-Schule zu Ratzeburg und bestand dort am 18.2.1964 die Reifeprüfung.

Vom Sommersemester 1964 bis zum Sommersemester 1969 studierte ich an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin. Am 3.9.1969 bestand ich das tierärztliche Staatsexamen.

Seit dem 15.10.1969 bin ich wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für Hygiene der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel.